

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

**DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA GRÍCOLA
POSGRADO EN PROTECCIÓN VEGETAL**

**DETECCIÓN DE LA MARCHITEZ BACTERIANA DEL MAÍZ,
Pantoea stewartii (Smith, 1898) Mergaert *et al.*, 1993,
EN EL VALLE CENTRAL DE MÉXICO Y
REACCIONES DE PATOGENICIDAD
EN SEIS GENOTIPOS DE MAÍZ**

TESIS

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:

NOEMÍ VALENCIA TORRES



**DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES**

ABRIL DEL 2005

CHAPINGO, ESTADO DE MÉXICO

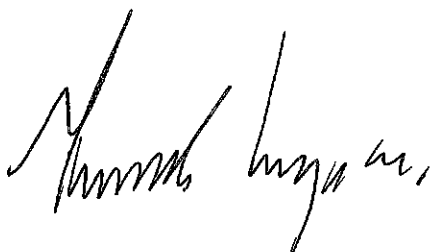


DETECCIÓN DE LA MARCHITEZ BACTERIANA DEL MAÍZ, *Pantoea stewartii* (Smith, 1898) Mergaert *et al.*, 1993, EN EL VALLE CENTRAL DE MÉXICO Y REACCIONES DE PATOGENICIDAD EN SEIS GENOTIPOS DE MAÍZ

TESIS RELIZADA POR NOEMÍ VALENCIA TORRES BAJO LA DIRECCIÓN DEL COMITÉ ASESOR INDICADO, APROBADA POR EL MISMO Y ACEPTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

DIRECTOR:



DR. SANTOS GERARDO LEYVA MIR

ASESOR:



DRA. MONICA MEZZALAMA

ASESOR:



DR. DANIEL JEFFERS

DEDICATORIA

A mis padres Hilario y Micaela que siempre se han esforzado para que salgamos adelante,
por su cariño y confianza que nos brindan y porque siempre están para apoyarme.

A mis hermanas Fabiola, Karina, Ariadna y a mi hermano Eric por el gran
----- cariño que nos une.

A mis abuelitos que siempre nos han apoyado.

A mi querido esposo Rafael porque siempre me motiva a seguir adelante para ser cada día
mejor, por su apoyo, consejos, comprensión y por el Amor que nos tenemos.

AGRADECIMIENTOS

- Al Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo por brindarme el apoyo y facilidades en la realización de los estudios de maestría y de la investigación.
- A la Universidad Autónoma Chapingo por permitirme continuar mi formación como profesionalista.
- A la Dra. Mónica Mezzalama por brindarme el tiempo para continuar mis estudios, por sus consejos y la excelente dirección en este trabajo de investigación y por todo el apoyo que me ha brindado.
- Al Dr. Gerardo Leyva por sus consejos y apoyo en el desarrollo de la investigación.
- Al Dr. Daniel Jeffers por su participación como asesor en la investigación.
- A la Dra. Lucy Gilchrist por darme la oportunidad de iniciar mis estudios de maestría.
- A mis compañeros de trabajo Nerida, Liliana, Mercedes, J.Luis L. J.Luis M. y Rogelio que me apoyaron en el desarrollo de mis actividades laborales y experimentales.
- Al Dr. Dave Hodson y M.C. Eduardo Martínez Romero (CIMMYT) por la preparación de los mapas y la facilitación de los datos climáticos.
- Al Dr. Mateo Vargas por su disponibilidad y el tiempo dedicado para llevar a cabo el análisis estadístico.
- A la Sra. Alma McNab (CIMMYT) por la revisión del manuscrito del primer artículo.

DATOS BIOGRÁFICOS

Datos personales

Lugar de origen: Texcoco, Estado de México.

Fecha de Nacimiento: 5 de Noviembre de 1974.

Formación académica

Primaria: Escuela Primaria Federal "Fray Pedro De Gante", San Diego, Texcoco, Estado de México. 1980-1986.

Secundaria: Escuela Secundaria Oficial No. 130 "Nezahualcoyotl", Texcoco, Estado de México. 1986-1989.

Preparatoria: Preparatoria Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo. 1989- 92.

Licenciatura: Ingeniero Agrónomo Especialista en Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo. 1992-96. Fecha de Examen Profesional 18 de Junio de 1998.

Tesis de Licenciatura: Reacción de trigos duros (*Triticum durum*) a la inoculación con carbón volador, eficiencia de diferenciales para identificar razas y efecto del clorotalonil en *Ustilago tritici* (Persoon) Rostrup en tratamiento a la semilla.

Maestría: Protección Vegetal, Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo. Enero, 2001 a Diciembre, 2003.

Tesis de Maestría: Detección de la marchitez bacteriana del maíz, *Pantoea stewartii* (Smith, 1898) Mergaert *et al.* 1993, en el Valle Central de México y reacciones de patogenicidad en seis genotipos de maíz.

Desempeño profesional

Ha laborado en el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo en:

* Programa de Carbón Parcial - Trigo, durante la realización del trabajo de Tesis. Enero - Mayo 1997.

* Laboratorio de Fitopatología de Trigo realizando actividades básicas del laboratorio. Mayo de 1997 - Junio de 1998.

* Laboratorio de Fitopatología de Trigo realizando actividades para el proyecto de Enfermedades de Suelo y Raíces. Julio de 1998 a Enero de 1999.

* A partir de Enero de 1999 a la fecha es responsable del Laboratorio de Sanidad de Semillas. Obtuvo la aprobación en la materia de Carbón Parcial del Trigo en 1999 y en la materia de Signatario de Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario virus-hongos en el 2004.

Ha participado como ponente en varios Congresos organizados por la Sociedad Mexicana de Fitopatología, obteniendo en dos ocasiones reconocimiento en la categoría de presentación a nivel maestría.

INDICE

	Pág.
RESUMEN	vi
ABSTRACT	viii
CAPITULO I	
Introducción y Revisión de Literatura	1
La producción de maíz en México	1
<i>Pantoea stewartii</i> (Smith, 1898) Mergaert <i>et al.</i> 1993	2
Taxonomía y nomenclatura	2
Morfología	3
Hospederos	4
Distribución geográfica	4
Biología y Ecología	5
Transmisión y supervivencia	5
Fisiología y virulencia	9
Incidencia	10
Síntomas	11
Importancia	13
Métodos de diagnóstico	15
Control	16
Predicción	16
Resistencia	16
Control químico	17
Semilla libre de la enfermedad	18
Control biológico	19
Literatura citada	19

CAPITULO II	
Detección de la marchitez bacteriana del maíz, <i>Pantoea stewartii</i> (Smith, 1898)	
Mergaert <i>et al.</i> , 1993 en el Valle Central de México	24
Resumen	24
Abstract	25
Introducción	25
Materiales y métodos	28
Resultados y discusión	31
Conclusión	40
Literatura citada	40
CAPITULO III	
Reacciones de patogenicidad en seis genotipos de maíz de cepas de <i>Pantoea stewartii</i> (Smith, 1898) Mergaert <i>et al.</i> , 1993 aisladas en México	43
Resumen	43
Abstract	44
Introducción	45
Materiales y métodos	49
Resultados y discusión	53
Conclusiones	63
Literatura citada	64
CONCLUSIONES GENERALES	67

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Pág.
 CAPITULO II		
1	Muestreo para detección de <i>P. stewartii</i> en el Valle Central de México en el año 2001.	32
2	Porcentaje de incidencia de <i>P. stewartii</i> por estado, en el 2001.	34
3	Muestreo para detección de <i>P. stewartii</i> en el Valle Central de México en el año 2002.	35
4	Porcentaje de incidencia de <i>P. stewartii</i> por estado, en el 2002.	36
5	Características climatológicas de las localidades muestreadas en el 2001 y 2002.	37
 CAPITULO III		
1	Líneas del programa de mejoramiento de maíz de Valles Altos del CIMMYT, con diferente nivel de resistencia a <i>P. stewartii</i> , bajo inoculaciones artificiales en campo (Jeffers 2003, comunicación personal).	50
2	Escala de evaluación de la reacción de patogenicidad en plántulas de maíz inoculadas con <i>P. stewartii</i> (adaptada de Blanco, 1977).	52
3	Valores de virulencia en los seis genotipos evaluados con las 82 cepas y con la cepa de referencia con base a la escala de evaluación de 0 a 5 (Blanco, 1977).	54
4	Cepas de <i>P. stewartii</i> que presentaron mayor virulencia en los seis genotipos de maíz.	59
5	Cepas de <i>P. stewartii</i> que presentaron menor virulencia en los seis genotipos de maíz.	60

INDICE DE FIGURAS

Figura		Pág.
CAPITULO II		
1	Localidades muestreadas en el año 2001 para detectar la presencia de <i>P. stewartii</i> en maíz.	29
2	Localidades muestreadas en el año 2002 para detectar la presencia de <i>P. stewartii</i> en maíz.	30
3	Muestra de hoja de maíz (<i>Zea mays</i> L.) con lesión alargada y bordes irregulares, colectada en Altepexi, Puebla, en julio 2001.	31
4	Muestra con síntomas avanzados, colectada en Zinacatepec, Puebla, en julio 2001.	31
CAPITULO III		
1	Pinza metálica con alfileres, algodón y suspensión bacteriana (a) lista para inocular en hojas de maíz. Hojas de maíz con perforaciones causadas por los alfileres (b). Síntomas en desarrollo a partir de las lesiones (c).	51
2	Grado de síntomas en la hoja inoculada, valores de 1 a 5 de acuerdo a la escala de evaluación descrita en el cuadro 2.	53
3	Distribución de los valores de virulencia de las 82 cepas aisladas en el 2002 más la cepa de referencia ATCC en el genotipo 1 de maíz, clasificado como resistente a <i>P. stewartii</i> . Letras diferentes indican valores de virulencia estadísticamente diferentes según Tukey ($P=0.05\%$).	55
4	Distribución de los valores de virulencia de las 82 cepas aisladas en el 2002 más la cepa de referencia ATCC en el genotipo 2 de maíz, clasificado como resistente a <i>P. stewartii</i> . Letras diferentes indican valores de virulencia estadísticamente diferentes según Tukey	

	(P=0.05%).	55
5	Distribución de los valores de virulencia de las 82 cepas aisladas en el 2002 más la cepa de referencia ATCC en el genotipo 3 de maíz, clasificado como moderadamente resistente a <i>P. stewartii</i> . Letras diferentes indican valores de virulencia estadísticamente diferentes según Tukey (P=0.05%).	56
6	Distribución de los valores de virulencia de las 82 cepas aisladas en el 2002 más la cepa de referencia ATCC en el genotipo 4 de maíz, clasificado como moderadamente resistente a <i>P. stewartii</i> . Letras diferentes indican valores de virulencia estadísticamente diferentes según Tukey (P=0.05%).	57
7	Distribución de los valores de virulencia de las 82 cepas aisladas en el 2002 más la cepa de referencia ATCC en el genotipo 5 de maíz, clasificado como susceptible a <i>P. stewartii</i> . Letras diferentes indican valores de virulencia estadísticamente diferentes según Tukey (P=0.05%).	58
8	Distribución de los valores de virulencia de las 82 cepas aisladas en el 2002 más la cepa de referencia ATCC en el genotipo 6 de maíz, clasificado como susceptible a <i>P. stewartii</i> . Letras diferentes indican valores de virulencia estadísticamente diferentes según Tukey (P=0.05%).	58
9	Valores de virulencia que la cepa de <i>P. stewartii</i> 29228 ATCC obtuvo en los seis genotipos de maíz utilizados en el experimento.	61
10	Porcentaje de asociaciones por nivel de correlación (r) según análisis de correlación (P=0.05%) (SAS, 1994) entre las 82 cepas aisladas más la cepa de referencia ATCC.	62

DETECCIÓN DE LA MARCHITEZ BACTERIANA DEL MAÍZ, *Pantoea stewartii* (Smith, 1898) Mergaert *et al.* 1993, EN EL VALLE CENTRAL DE MÉXICO Y REACCIONES DE PATOGENICIDAD EN SEIS GENOTIPOS DE MAÍZ

Noemí Valencia-Torres, Mónica Mezzalama, CIMMYT Int., km 45 Carr. México-Veracruz, El Batán, Texcoco, Edo. de México CP 56130; **Santos Gerardo Leyva-Mir**, Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Parasitología Agrícola, km 38.5 Carr. México-Texcoco, Chapingo, Edo. de México CP 56230; y **Daniel P. Jeffers**, CIMMYT Int. Correspondencia: n.valencia@cgiar.org

RESUMEN

En los años 2001 y 2002 se muestrearon plantas de maíz en 61 y 26 localidades, respectivamente, del Valle Central de México, zona que abarca parte de los estados de México, Hidalgo, Tlaxcala, Morelos, Puebla y Veracruz entre 1167 y 2811 msnm, para detectar la presencia y la distribución de la marchitez bacteriana de Stewart, causada por la bacteria *Pantoea stewartii*. Las hojas de plantas con los síntomas típicos de la enfermedad se llevaron al laboratorio para ser analizadas con la prueba de ELISA utilizando antisueros comerciales. En el 2001 el 43.5%, y en el 2002 el 78.6% de las muestras recolectadas resultaron positivas a la bacteria con la prueba de ELISA. Estos resultados indican que la enfermedad está presente en forma esporádica en México, como lo habían reportado otros autores anteriormente.

Ochenta y dos cepas de *Pantoea stewartii* (Smith, 1898) Mergaert *et al.*, 1993, agente de la marchitez bacteriana del maíz, fueron aisladas de hojas de plantas de maíz colectadas en los estados de México, Puebla e Hidalgo (Valle Central de México). Se inocularon en dos genotipos de maíz clasificados como resistentes, dos clasificados como medianamente resistentes y dos como susceptibles a la enfermedad, para determinar su patogenicidad y su nivel de virulencia, comparados a una cepa de referencia (*P. stewartii* 29228 de American Type Culture Collection). Las pruebas de patogenicidad se llevaron a cabo bajo condiciones de invernadero inoculando las tres hojas más jóvenes de las plántulas 20 días después de la siembra, utilizando un método de punción. Doce días después de la inoculación se efectuó la evaluación de los síntomas en las hojas inoculadas utilizando la escala de evaluación de 0 a 5. Los resultados muestran que las reacciones de patogenicidad de las 82 cepas fueron estadísticamente diferentes en los 6 genotipos. El 100% de las cepas fueron patogénicas en los dos genotipos susceptibles y en uno resistente, el 98.8% fueron patogénicas en los dos genotipos medianamente resistentes y el 66.27% fueron patogénicas en un genotipo resistente. Los valores de virulencia de las 82 cepas llegaron a 3.6 en los genotipos susceptibles, a 2.7 en los genotipos medianamente resistentes y a 1.5 en los genotipos resistentes. Los valores de virulencia de la cepa de referencia ATCC en comparación con los valores de las cepas aisladas en las diferentes localidades del Valle Central de México fueron menores, pero el patrón de reacción de patogenicidad y virulencia fue el mismo. Las reacciones de patogenicidad de las 82 cepas en los seis genotipos demuestran que existe poca variabilidad entre las cepas aisladas en las diferentes localidades del Valle Central de México y se determinó que no existe relación entre la localidad de aislamiento de las cepas y el nivel de virulencia de cada una.

Palabras claves adicionales: Marchitez bacteriana de Stewart, distribución, patogenicidad, virulencia.

DETECTION OF STEWART'S BACTERIAL WILT *Pantoea stewartii* (Smith, 1898) Mergaert *et al.*, 1993, IN THE CENTRAL VALLEY OF MEXICO AND PATHOGENICITY REACTIONS IN SIX MAIZE GENOTYPES

Noemí Valencia-Torres, Mónica Mezzalama, CIMMYT Int., km 45 Carr. México-Veracruz, El Batán, Texcoco, Edo. de México CP 56130; **Santos Gerardo Leyva-Mir**, Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Parasitología Agrícola, km 38.5 Carr. México-Texcoco, Chapingo, Edo. de México CP 56230; y **Daniel P. Jeffers**, CIMMYT Int. Corresponding author: n.valencia@cgiar.org

ABSTRACT

In 2001 and 2002 maize plants were surveyed at sixty-one and twenty-six sites located in the Central Valley of Mexico, respectively, which comprise the states of Mexico, Hidalgo, Tlaxcala, Morelos, Puebla and Veracruz between 1167 and 2811 masl, for the presence of *Pantoea stewartii*, the causal agent of Stewart's wilt disease of maize. Leaves of plants showing disease symptoms were taken to the laboratory and analyzed with ELISA test using commercial kits. In 2001, 43.5% of the collected leaf samples reacted positively to the ELISA test, as did 78.6% of samples in 2002. These results confirm that the disease is present in Mexico, as reported previously by other authors.

Eighty two strains of *Pantoea stewartii* (Smith, 1898) Mergaert *et al.*, 1993, causal agent of Stewart's wilt disease in maize, were isolated from maize leaves collected in the States of Mexico, Puebla, and Hidalgo (Central Highlands of Mexico). These strains were inoculated into two maize genotypes classified as resistant, two classified as moderately resistant, and two classified as susceptible to Stewart's wilt to determine their pathogenicity and their level of virulence compared to a reference strain (*P. stewartii* 29228 from the American Type Culture Collection). The three youngest leaves of 20-day-old seedlings were inoculated under greenhouse conditions using the pinprick method. Twelve days after inoculation, disease symptoms were evaluated using a scale from 0 to 5. Results showed that the 82 strains gave pathogenicity reactions statistically different in the six genotypes. One hundred per cent of the strains were pathogenic on the two susceptible genotypes and a resistant one; 98.8% were pathogenic on the two moderately resistant genotypes, and 66.27% were pathogenic on the two resistant ones. On the 0 to 5 scale, the 82 strains reached values of up to 3.6 in the susceptible genotypes, 2.7 in the moderately resistant genotypes, and 1.5 in the resistant genotypes. The reference ATCC strain showed lower values but with the same pattern of the Mexican isolates according to genotype classification. The pathogenicity reactions of the 82 strains show there is little variability among strains isolated from the different sites. It also demonstrated there is no correlation between the point of origin of the strain and its level of virulence.

Additional keywords: Stewart's wilt, distribution, pathogenicity, virulence.

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN Y REVISIÓN DE LITERATURA

Noemí Valencia-Torres, Mónica Mezzalama, CIMMYT Int., km 45 Carr. México-Veracruz, El Batán, Texcoco, Edo. de México CP 56130; **Santos Gerardo Leyva-Mir**, Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Parasitología Agrícola, km 38.5 Carr. México-Texcoco, Chapingo, Edo. de México CP 56230; y **Daniel P. Jeffers**, CIMMYT Int. Correspondencia: n.valencia@cgiar.org

LA PRODUCCIÓN DE MAÍZ EN MÉXICO

El maíz constituye en la actualidad uno de los productos agrícolas de mayor importancia para México. Esta importancia se deriva del hecho de que el maíz es por tradición base de la alimentación de la sociedad mexicana, realizándose su producción básicamente en todos los estados de la República, bajo diversas formas y procedimientos productivos con diferentes grados de tecnificación y utilización de una amplia variedad de semillas (<http://www.siea.sagarpa.gob.mx/Publicaciones/Archivos/Maiz90-99.pdf>).

En México la producción de maíz se destina predominantemente al consumo humano, y en menor medida se utiliza como alimento para el ganado en forma directa o es canalizado a la industria de alimentos balanceados, principalmente para aves y cerdos (<http://www.siea.sagarpa.gob.mx/Publicaciones/Archivos/Maiz90-99.pdf>).

A nivel nacional en el año 2003 la superficie sembrada con maíz fue de 5,570,465.30 ha, en el ciclo Primavera-Verano y bajo condiciones de temporal fue de 4,592,951.78 ha, que representan el 42.74% del total de la superficie agrícola. Los principales estados

productores bajo condiciones de temporal son Chiapas, con una superficie sembrada de 560,585.73 ha, Puebla con 438,634.00 ha y México con 407,731.52 ha (http://www.siap.sagarpa.gob.mx/ar_comagri.html)

Entre los problemas fitosanitarios de maíz en México destacan las plagas y enfermedades ocupando un lugar prioritario en la relación de factores que limitan la productividad del cultivo, ya que cada uno de estos problemas puede por si solo ser la causa de pérdidas en rendimiento que van desde bajos porcentajes hasta la pérdida total de la cosecha, lo cual se refleja en la cosecha obtenida. Por esta razón entre otras, muchos productores han dejado de sembrar maíz, lo que trae como consecuencia una considerable disminución de la superficie sembrada y por ende de volúmenes producidos lo que origina la necesidad de importar granos de otros países (SARH, 1992).

Entre algunas de las principales enfermedades del maíz se encuentran las pudriciones de raíz y tallo causadas por *Fusarium moniliforme*, *F. graminearum*, *Pythium aphanidermatum* y *Stenocarpella maydis*; manchas foliares causadas por *Phyllachora maydis*, *Monograpella maydis*, *Puccinia polysora*, *P. sorghi*, *Curvularia lunata* y *C. pallescens*; tizones foliares causados por *Exserohilum turcicum* y *Bipolaris maydis* y marchitez bacteriana causada por *Pantoea stewartii* considerada de importancia cuarentenaria de acuerdo a la NOM-018-FITO-1995 (SARH, 1992; Pataky, 1999 y SAGARPA, 1996).

***Pantoea stewartii* (Smith, 1898) Mergaert et al. 1993**

Taxonomía y Nomenclatura

La taxonomía de este patógeno fue discutida a lo largo de la primera mitad del siglo 20

hasta que D. W. Dye en 1963 propuso *Erwinia stewartii* como el nombre correcto. Antes de esto la bacteria fue nombrada: *Pseudomonas stewartii*, *Bacterium stewartii*, *Aplanobacter stewartii*, *Bacillus stewartii*, *Phytomonas stewartii*, *Xanthomonas stewartii* y *Pseudobacterium stewartii*. Recientemente, la nomenclatura del género *Erwinia* ha sido modificado basándose en los enfoques quimiotaxonómicos y moleculares; sin embargo, la complejidad taxonómica de este grupo no ha sido completamente resuelta. El género *Pantoea* fue propuesto para algunas cepas del complejo *Erwinia herbicola* – *Enterobacter agglomerans*, incluyendo *E. stewartii*. Miembros del género *Pantoea* forman un taxón homogéneo; sin embargo, la separación de este grupo de otras especies de *Erwinia* no está completamente soportado por algunos enfoques, tales como el análisis secuencial 16S RNA. Así el patógeno continúa refiriéndose por los dos binomiales en Latín, *Pantoea stewartii* y *Erwinia stewartii* (Pataky, 2003). En el desarrollo de este estudio se ha tomado la decisión de referirse al patógeno como *Pantoea stewartii*.

Morfología

P. stewartii es una bacteria anaeróbica facultativa, gram-negativa, no flagelada, en forma de bastón, que no forma esporas, que no es móvil y que mide aproximadamente 0.4 a 0.8 x 0.9 a 2.2 mm. El medio de cultivo de crecimiento afecta el color de las colonias y el crecimiento mismo. Las colonias en agar extracto de levadura-dextrosa-carbonato de calcio son amarillas y convexas mientras en agar nutritivo y glucosa son de color amarillo-crema a amarillo-naranja (Bradbury, 1967; Pepper, 1967). La patogenicidad de *P. stewartii* está relacionada a la producción de polisacáridos extracelulares que contribuyen a la oclusión de los vasos del xilema y al desarrollo de los síntomas de

marchitez (Pataky, 2003).

Hospederos

La especie *Zea mays* es el hospedero primario de *P. stewartii*. La bacteria también ha sido aislada del teocintle (*Zea mexicana*) y del pasto gamma del oriente (*Tripsacum dactyloides*). Plantas de muchos géneros (*Agrostis*, *Panicum*, *Poa*, *Setaria*, *Triticum*) pueden ser inoculadas artificialmente con *P. stewartii* y pueden servir como hospederos secundarios débiles (CABI, 2003).

Distribución geográfica

Esta enfermedad fue reportada por primera vez en 1897 en Estados Unidos, donde se considera endémica (Claflin, 1999), y su presencia ha sido confirmada en Austria, Brasil, Bolivia, Canadá, Costa Rica, India, México (distribución restringida), Puerto Rico, Guyana y Perú. La enfermedad ha sido erradicada en China, Federación Rusa, Grecia, Italia, Malasia, Polonia, Rumania, Tailandia y Vietnam (Anónimo, 1983; CMI, 1987).

La marchitez bacteriana puede ocurrir en una amplia gama de condiciones ambientales, el clima afecta la supervivencia del insecto vector (*Chaetocnema pulicaria*) Melscheimer, pero no parece tener un impacto substancial en la bacteria. En América del Norte, la marchitez bacteriana no se presenta usualmente en áreas donde la temperatura media diaria de invierno es inferior a -3°C, porque su vector, no sobrevive bajo estas condiciones (Stevens y Haenseler, 1941).

En México se detectó por primera vez en 1937 por Elliot (Elliot, 1938) quien realizó aislamientos de hojas con síntomas de marchitez bacteriana recolectadas en Orizaba y

Jalapa, (Veracruz) y quien también reportó la presencia del vector *C. pulicaria*. En 1967 algunos híbridos de maíz (H-28 y H-129), fueron atacados por un patógeno en el Valle de Toluca, en las localidades de Almoloya de Juárez, Villa de Allende, Villa Victoria, Zinacantepec, Toluca, Lerma, Tenango del Valle, Capulhuac y Tianguistenco. Dicho patógeno, que resultó ser una bacteria parecida a *P. stewartii*, causó necrosis en las hojas y pudrición del tallo y destruyó hasta un 40% y afectó un 89% de las plantas en algunas zonas de cultivo de Toluca, México (Fucikovsky *et al.*, 1972).

Debido a que hubo una alta incidencia durante los primeros años de la década de 1970, en 1975 Cabrales y Fucikovsky, realizaron aislamientos de tallos y hojas de plantas infectadas, pruebas de patogenicidad y reacción de hipersensitividad, procediendo a la identificación del patógeno mediante las pruebas de características fisiológicas y morfológicas, identificando al organismo causal como *P. stewartii*. En un estudio realizado en 1997 también se reporta su presencia en siembras de maíz en Texcoco, México; confirmando en 1998 por medio de un muestreo en los estados de Tlaxcala, México, Veracruz, Hidalgo, Morelos, Oaxaca, Puebla y Michoacán que la bacteria estaba distribuida en cuatro localidades de Tlaxcala, tres localidades de Puebla y dos de Hidalgo (Ávila *et al.*, 1999).

Biología y Ecología

a) Transmisión y supervivencia. F.C. Stewart en 1897 sugirió que la bacteria es diseminada por semilla, pero no fue hasta 1923 que F.V. Rand y Lillian Cash detectaron a la pulga saltona, *C. pulicaria*, como el principal vector responsable de la dispersión de la enfermedad en la fase de tizón de la hoja. La capacidad del patógeno para sobrevivir durante el invierno en el vector antes que en semilla fue establecido por F. W. Poos y

Charlotte Elliot en 1934 (Pataky, 2003).

P. stewartii sobrevive primeramente en dos organismos, el maíz y la pulga saltona del maíz, *C. pulicaria* (Pataky, 2003). Generalmente es aceptado que *C. pulicaria* proporciona el medio de hibernación y transmisión del patógeno (Pepper, 1967) y no se conocen ejemplos de dispersión y presencia de la bacteria en ausencia del insecto. Aunque la enfermedad ha sido reportada con poca frecuencia en varias partes del mundo, no ha sido establecida fuera de la región de Norte América donde esta presente la pulga saltona (Pataky, 2003), sin embargo, pueden ocurrir brotes de la marchitez bacteriana en otras áreas, tales como el Valle del Po en Italia, donde *C. pulicaria* no se presenta (Anonimo, 1983).

En los Estados Unidos la marchitez bacteriana es endémica en la faja media de la costa del Atlántico, en la región de la rivera del Valle de Ohio y en la porción sur del “cinturón maicero”, su presencia en otros estados del oriente, medio occidente y porciones de Canadá coinciden con la presencia de la pulga saltona; *P. stewartii* sobrevive en el tracto alimenticio de la pulga saltona. Estos insectos emergen de su hibernación en la primavera cuando la superficie del suelo alcanza temperaturas de alrededor de 18 a 21°C. Las pulgas saltonas se alimentan en plantas jóvenes de maíz y transmiten *P. stewartii*. La bacteria es incapaz de diseminarse de planta a planta sin este vector. Aunque la bacteria esta presente en el material regurgitado y en las heces de *C. pulicaria*, el método más probable de infección parece ser por contaminación fecal en las heridas causadas al momento de la alimentación (Pataky, 2003). Después de la infección inicial, la bacteria se mueve en el xilema de las plantas. La severidad de la infección y el grado relativo de resistencia o susceptibilidad de una planta esta asociada con el movimiento dentro de la planta de *P. stewartii*. En genotipos con reacciones

altamente susceptibles la infección es sistémica y *P. stewartii* puede ser aislada de tejidos a lo largo de toda la planta, incluyendo semilla; en aquellas con reacciones resistentes, la bacteria usualmente es restringida a tejidos cerca del sitio de infección, por ejemplo, las heridas que se causan al momento de alimentarse los insectos (Braun, 1982).

En los Estados Unidos, se puede predecir la presencia de la marchitez bacteriana con base al promedio de la temperatura diaria en diciembre, enero y febrero, la cual afecta la supervivencia de *C. pulicaria*. Si la temperatura promedio diaria durante este período es superior al congelamiento, la pulga saltona sobrevive y es probable que la marchitez bacteriana sea severa en híbridos susceptibles. Si la temperatura promedio diaria es menor de -3°C es menos probable que las pulgas saltonas sobrevivan y que la marchitez bacteriana sea severa (Esker y Nutter, 2002).

Dos o más generaciones de verano de la pulga saltona se desarrollan durante la estación de crecimiento del cultivo del maíz. La primera generación de verano se presenta a mediados de junio y una segunda generación ocurre 4 a 6 semanas después. Los dos ciclos de infección de la marchitez bacteriana coinciden con las poblaciones pico de la pulga saltona. El primer ciclo de la marchitez bacteriana es el más dañino porque las plántulas son infectadas por *P. stewartii* que es transmitida por las generaciones hibernantes de la pulga saltona, ocasionando la presencia de infección sistémica y marchitez. El segundo ciclo de infección ocurre cuando la bacteria es transmitida por la primera generación de verano del insecto. El segundo ciclo de infección usualmente causa la fase de tizón de la hoja, pero puede ocasionar la marchitez de plántulas en cultivos de maíz dulce tardío. Generaciones subsiguientes de la pulga saltona adquieren a la bacteria de plantas infectadas y son las poblaciones que hibernan e infectan los

cultivos el siguiente año (Pataky, 2003). Estas observaciones proveen la evidencia de que la pulga saltona es el único vector de importancia epidemiológica (Pepper, 1967).

Aunque *P. stewartii* puede ser transmitida por semilla, la transmisión por semilla juega un papel insignificante en la epidemiología de la marchitez bacteriana en áreas donde la enfermedad es endémica. Fuera de América del Norte, cerca de 60 países tienen restricciones cuarentenarias en semilla de maíz para prevenir la introducción de *P. stewartii* (Pataky, 2003), como sucede en México de acuerdo a la NOM-018-FITO-1995 (SAGARPA, 1996).

Si en las plantas productoras de semilla se produce una infección sistemicamente durante la fase de marchitez de plántula, la semilla puede ser infectada con *P. stewartii*. Si la fase de tizón de hoja de la marchitez bacteriana ocurre pero las plantas productoras de semilla no son infectadas sistemicamente, la transmisión por semilla es extremadamente improbable. Algunas de las investigaciones en transmisión de *P. stewartii* en la primera mitad del siglo 20 no consideraron las reacciones de las plantas productoras de semilla y/o la presencia de vectores, y además los porcentajes de transmisión por semilla fueron sobreestimados por cerca de 60 años. En investigaciones recientes de transmisión de planta a semilla y de semilla a plántula, los porcentajes de transmisión en semilla parecen ser 1 en 50,000 para semilla producida de plantas susceptibles e infectadas sistemicamente y 1 en 20,000,000 para semilla producida en plantas resistentes con síntomas en la fase de tizón de la hoja (Pataky, 2003).

Semilla de plantas infectadas transmiten el patógeno a plántulas en un porcentaje de 10.6% en placas de agar (Frutchey, 1936) y 13% en suelo en invernadero en ausencia de otras fuentes de inóculo (Rand y Cash, 1933). No hubo transmisión por semilla, cuando la semilla fue obtenida de plantas inoculadas y con menos de 36% de incidencia de

infección en semilla. Cuando las semillas fueron infectadas más severamente (36-71%) el porcentaje de transmisión fue de 0 a 0.00754%. Para semillas infectadas naturalmente con una incidencia de 35% la transmisión bajo condiciones de invernadero no se detectó, pero se encontró una plántula infectada de 8127 probadas en semillas con 9% de incidencia de infección (McGee, 1996).

b) Fisiología y virulencia. Las poblaciones del patógeno se incrementan en porcentaje similar en las hojas de hospederos resistentes y susceptibles. Cuando las hojas de plantas en la etapa de floración son inoculadas con *P. stewartii* las lesiones se expanden tres a cuatro veces más rápido en plantas susceptibles que en resistentes. Los poros de las membranas (pit) llegan a cubrirse con un material parecido a un exopolisacárido bacteriano mientras las poblaciones del patógeno permanecen muy bajas en los vasos. Muchos vasos llegan a ocluirse totalmente con células bacterianas y los exopolisacáridos como poblaciones de *P. stewartii* se incrementan. La producción de exopolisacáridos y la virulencia están correlacionados. La síntesis de polisacárido capsular y la virulencia en *P. stewartii* parecen requerir una proteína reguladora "quórum-sensing". Una aglutinina bacteriana fue extraída de semilla de maíz molida y las actividades de esta aglutinina fueron estimadas para 22 cepas de *P. stewartii* variando en virulencia. La cual ha sido estudiada en cepas de *P. stewartii* extensivamente a nivel molecular (Bradshaw-Rouse *et al.*, 1981).

En comparación a otras bacterias, *P. stewartii* parece ser un organismo relativamente homogéneo que se ha adaptado para sobrevivir en el maíz y la pulga saltona, *C. pulicaria*. Por ocupar estos dos nichos especializados, las poblaciones de *P. stewartii* han sido seleccionadas por su mayor similitud que otras especies de *Erwinia* no especialistas, tales como *E. herbicola* y *E. carotovora*, las cuales se encuentran

distribuidas en la naturaleza y son mucho más diversas fenotípicamente que *P. stewartii* (Pataky, 2003).

Ciento veinticuatro aislamientos de *P. stewartii* originados de maíz dulce o de pulgas saltonas colectados en los estados del noreste, medio oeste y medio Atlántico de los Estados Unidos tienen perfiles metabólicos homogéneos en un 93% de similitud. Dos tercios de los aislamientos formaron 18 grupos separados con el mismo perfil metabólico, mientras que un tercio tuvo distintos perfiles. Esta homogeneidad fenotípica fue interpretada como una indicación de que el patógeno ha sido perfilado para sobrevivir en particular en *Zea mays* y *C. pulicaria*, debido a que las infecciones no son severas en otros hospederos y *P. stewartii* no es transmitido eficientemente por otros vectores (Wilson *et al.*, 1999).

c) Incidencia. La relación entre la severidad de infección de las plantas y la infección de granos ha sido investigada. No se detectó infección en semillas cuando la infección de hoja fue de 0.5 y 10%; incidencias bajas de infección en semilla, 0.2, 0.7 y 1.8% fueron detectadas en plantas con 25, 35 y 50% de infección, respectivamente (CABI, 2003).

En un estudio de la relación entre infección foliar e infección de semilla en 77 genotipos de maíz, los resultados muestran que se detectó frecuentemente semilla infectada con *P. stewartii* solamente en plantas con 25% o más de tejido foliar necrótico y no se detectó *P. stewartii* en semilla obtenida de plantas con infección foliares desde muy leve hasta un 2% de severidad y tampoco se detectó en aquellas con un porcentaje de severidad del 6 al 14%, mientras que en plantas con 15 a 25% de severidad se detectó a la bacteria en semilla. La más alta incidencia de semilla infectada por *P. stewartii* fue de 2.1% y se obtuvo en semillas provenientes de plantas con menos del 50% de tejido foliar necrótico (Block *et al.*, 1999).

En un estudio similar, plantas de 20 híbridos de maíz dulce y ocho maíces dentados fueron inoculados semanalmente en la etapa de crecimiento de la tercera a la decima hoja y *P. stewartii* fue recuperada solamente de semilla producida en plantas con síntomas sistémicos de marchitez (Khan *et al.*, 1996).

Recientemente se determinó el papel de la resistencia en la transmisión de *P. stewartii* de planta a semilla. Para híbridos clasificados como resistentes, se estima que la infección de grano fue de 0.024 y 0.0007% en 1998 y 1999, respectivamente. Para híbridos con reacciones moderadas a la marchitez bacteriana, se estima que la infección del grano fue de 0.19 y 0.07% en 1998 y 1999, respectivamente. Para híbridos con reacciones susceptibles, se estima que la infección del grano fue de 11.6 y 7.8% en 1998 y 1999, respectivamente (Michener *et al.*, 2002b).

Síntomas

La marchitez bacteriana ocurre en dos fases. Una afecta plantas jóvenes, las cuales son infectadas de forma sistémica. Por lo general estas plantas se marchitan rápidamente y pueden confundirse con síntomas de sequía o daños por insectos. Las hojas presentan lesiones lineales de color verde pálido a amarillas con márgenes irregulares u ondulados, paralelas a las venas y se pueden extender a lo largo de la hoja. Estas lesiones se secan rápidamente volviéndose de color café. En ataques severos pueden presentarse daños en tallos, caracterizados por cavidades en la médula de los nudos inferiores, cerca de la línea del suelo. La bacteria coloniza el sistema vascular y puede diseminarse a través la planta (Claflin, 1999).

La segunda fase y más común de esta enfermedad es un tizón de la hoja, usualmente visible después de la floración. Las lesiones en las hojas son de color verde pálido a

amarillo verdoso y desarrollan como líneas a lo largo de las venas, usualmente se originan desde el sitio de alimentación de los vectores primarios de la enfermedad en el campo. Si la enfermedad es severa las hojas completas pueden morir y secarse prematuramente quedando expuestas al ataque de hongos en tallo y raíz, sin embargo, la fase de tizón de la hoja no es tan grave como la fase de infección sistémica en plántulas la cual destruye completamente a las plantas (Claflin, 1999).

En ambas fases de la enfermedad, la infección ocurre cuando el tejido de las plantas es herido durante la alimentación de la pulga saltona del maíz (*C. pulicaria*) (Pataky, 2003).

Los síntomas iniciales de esta enfermedad en hojas son similares para la fase de tizón de la hoja e infección sistémica en la plántula. El tejido de las hojas alrededor de la herida que se causa por la alimentación de la pulga saltona inicialmente es acuoso. Después de la infección inicial un estriado lineal de verde pálido a amarillo con márgenes irregulares u ondulados se desarrollan paralelos a las venas de las hojas. Estas lesiones pueden extenderse a lo largo de la hoja en cultivares susceptibles. Con la edad el tejido acuoso y clorótico llega a ser necrótico. Si la infección es sistémica, síntomas bien definidos aparecen en hojas nuevas emergiendo del punto de crecimiento de la planta. La inflorescencia puede ser blanquecina debido a la muerte prematura. La bacteria se distribuye a través del sistema vascular de plantas infectadas sistémicamente y ocasionalmente infecta granos. En cultivares resistentes, los síntomas usualmente son limitados de 2 a 3 cm alrededor de la herida donde se alimenta la pulga saltona. Una serie de reacciones a la marchitez bacteriana ocurren entre diferentes líneas de maíz. Si la infección ocurre cuando las plántulas están emergiendo, el tallo principal puede morir dando como resultado un amacollamiento anormal. Sin embargo esto no ha sido

demostrado experimentalmente, la muerte del tallo principal resulta probablemente de la infección del punto de crecimiento cuando la pulga saltona transmite *P. stewartii* mientras se alimenta de coleóptilos emergiendo o en plántulas muy jóvenes (Pataky, 2003).

Los síntomas foliares de la fase de tizón de la hoja son similares a aquellos de la fase de tizón en plántula. El tejido clorótico o necrótico puede extenderse a lo largo de las hojas, o los síntomas pueden ser limitados a unos pocos centímetros dependiendo de la resistencia o susceptibilidad del cultivar. La muerte prematura de hojas debido a la marchitez bacteriana puede predisponer el debilitamiento de la planta a la pudrición del tallo resultando en reducción de rendimientos (Pataky, 2003).

Daños por sequía y daños por insectos (Claflin, 1999) pueden producir síntomas en hojas que son similares a los de la marchitez bacteriana. Si embargo un simple examen del tejido de la hoja en el microscopio para observar el flujo bacteriano puede fácilmente diferenciar la marchitez bacteriana de otros desordenes con síntomas similares (Pataky, 2003).

Importancia

En campos de maíz, las pérdidas de rendimiento debido a la marchitez bacteriana han sido de poca importancia en Norte America en los pasados 50 años, excepto por un pequeño y esporádico brote. El mínimo impacto económico de la marchitez bacteriana en campos de maíz es primeramente debido a los adecuados niveles de resistencia incorporados en los híbridos de maíz dentado que son producidos donde la enfermedad se presenta aunque algunas líneas de maduración temprana son moderadamente susceptibles. Antes del desarrollo de híbridos resistentes, la marchitez bacteriana causó

notables pérdidas económicas, particularmente durante epidemias a principios de los 1930's (Pataky, 2003).

Las pérdidas de rendimiento en maíz dulce debido a la marchitez bacteriana dependen de los niveles de resistencia o susceptibilidad de los híbridos y de la etapa de crecimiento en la cual las plantas son infectadas, por tanto, las pérdidas económicas debido a la marchitez bacteriana continúan siendo notables porque híbridos susceptibles o moderadamente susceptibles son producidos periódicamente en áreas donde la pulga saltona se presenta (Pataky, 2003) y la infección sistémica de estos híbridos ocasiona una reducción del peso y tamaño de mazorca y en algunos casos no se producen mazorcas (Suparyono y Pataky, 1989; citados por Michener *et al.*, 2002a).

El rendimiento no es afectado adversamente o las pérdidas son mínimas en híbridos resistentes y moderadamente resistentes; sin embargo, ocurren pérdidas frecuentemente de 40 a 100% cuando híbridos de maíz dulce susceptibles se producen y se presenta una epidemia de la bacteria, infectando las plántulas antes de la etapa de la quinta hoja. Las pérdidas de rendimiento en maíz dulce están relacionadas a la infección sistémica. El rendimiento es reducido alrededor de 0.8% por cada 1% de incidencia de plantas infectadas sistemicamente como plántulas (Pataky, 2003).

Pataky, 1988 y Suparyono, 1989 determinaron que el rendimiento de híbridos susceptibles o moderadamente susceptibles es reducido substancialmente cuando las plántulas son infectadas sistemicamente como resultado de inoculación o infección natural antes o aproximadamente en la etapa de la séptima hoja. Si los híbridos son infectados en la etapa de la séptima a la novena hoja o después, el rendimiento no se reduce mucho (Suparyono, 1989). El rendimiento de híbridos resistentes o moderadamente resistentes es afectado menos adversamente (menos del 5.6% y entre 5.6

y 11.1% respectivamente) que el rendimiento de híbridos susceptibles (mayor del 13.9%) a pesar de la etapa de crecimiento en la cual las plantas son infectadas, primeramente porque los híbridos resistentes son infectados sistemicamente con menos frecuencia que los híbridos susceptibles (Suparyono, 1989 y Pataky, 1988).

El efecto en la calidad de la semilla se refleja en la semilla cosechada de mazorcas severamente infectadas que con frecuencia son deformes, chupadas y decoloradas, y con bajos niveles de germinación (Pepper, 1967).

El efecto más importante de la marchitez bacteriana puede ser que tiene un impacto económico en el comercio de semilla esto debido a las regulaciones fitosanitarias y/o a los costos adicionales por inspecciones fitosanitarias antes de las exportación, como sucede en México que es considerada una enfermedad de importancia cuarentenaria de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-018-FITO-1995 (SAGARPA, 1996). También crea costos indirectos en la producción de semilla porque los recursos son usados para producir maíz resistente a la marchitez bacteriana y desarrollar híbridos que controlen la enfermedad eficientemente (Pataky, 2003).

Métodos de diagnóstico

Un método simple para confirmar la diagnosis de la marchitez bacteriana de hojas con síntomas es observar con ayuda de un microscopio el flujo bacteriano del haz vascular en cortes del tejido de la hoja colocados en una gota de agua. Con la prueba de inmunoabsorción enzimática (ELISA) basada en un antisuero policlonal se puede detectar *P. stewartii* en tejido de plantas infectadas, semilla y en el insecto vector *C. pulicaria* (Lamka *et al.*, 1991).

Con el uso del medio de nigrosina selectivo para *P. stewartii*, los aislamientos deben ser

incubados a 30°C durante 5 a 7 días y las colonias son circulares, ligeramente convexas, lisas y brillantes; además, manifiestan un característico centro pigmentado de negro y un amplio margen transparente (Guo *et al.*, 1982).

La temperatura óptima para el crecimiento de *P. stewartii* es de 27 a 30°C, la temperatura máxima es de 32 a 40°C. Es oxidasa negativa y catalasa positiva; no produce gas y produce ácido de fructosa, galactosa, D-glucosa, beta-metilglucosido, arabinosa, xilosa, lactosa, manosa, manitol, glicerol y sucrosa. *P. stewartii* utiliza acetato, fumarato, gluconato, malato, succinato y no utiliza benzoato, oxalato o propionato como fuentes de carbón y energía. Muestra lento crecimiento en gelatina, pero no tiene licuefacción. No reduce nitratos a nitritos y no produce sulfuro de hidrógeno (Bradbury, 1967).

Control

a) Predicción. En los Estados Unidos, la presencia de la marchitez bacteriana es predecida con base a la temperatura promedio diaria durante diciembre, enero y febrero, las cuales están asociadas con la supervivencia de *C. pulicaria* (Pepper, 1967). Si la media de este período es superior al congelamiento, *C. pulicaria* hiberna y la marchitez puede presentarse. Si la media es inferior a -3°C, pocas pulgas saltonas sobreviven y la marchitez probablemente no se presente. Los productores utilizan esta información de predicción cuando deciden sembrar variedades de maíz susceptibles o resistentes a la marchitez y si no aplican la adecuada medida de control tal como el tratamiento a la semilla con insecticida (Munkvold *et al.*, 1996).

b) Resistencia. A lo largo de América del Norte, la marchitez bacteriana es controlada efectivamente sembrando híbridos de maíz resistentes. La resistencia restringe el

movimiento de *P. stewartii* en el sistema vascular de las plantas e impide que las plantas se infecten sistémicamente. Además, los niveles de resistencia o susceptibilidad en un híbrido afecta la frecuencia de plantas infectadas sistémicamente. Si un híbrido tiene un nivel de resistencia a la marchitez bacteriana que evita la infección sistémica el daño económico por la enfermedad raramente ocurre. La mayoría de híbridos de grano dentado tienen reacciones altamente resistentes y moderadamente resistentes a la marchitez bacteriana, mientras que los híbridos de maíz dulce tienen reacciones de resistentes a altamente susceptibles. Patólogos y mejoradores normalmente al inocular plantas con *P. stewartii* o raramente bajo condiciones de infección natural seleccionan plantas con síntomas leves de marchitez bacteriana (Pataky, 2003).

c) Control químico. En algunas situaciones, los productores prefieren sembrar híbridos con reacciones moderadas o susceptibles a la marchitez bacteriana porque estos híbridos tienen otras características importantes. Por ejemplo, muchos productores de maíz dulce para mercado en fresco siembran híbridos de madurez temprana que son moderadamente susceptibles o susceptibles a la marchitez bacteriana, pero se pueden cosechar temprano cuando los precios son altos. En esta situación, la marchitez bacteriana se puede manejar controlando la pulga saltona. El tratamiento de la semilla antes de la siembra con insecticidas (p.e. clothianidin, imidacloprid, thiamethoxam) puede proteger a las plantas de infecciones por la muerte del vector antes de que la bacteria sea transmitida (Pataky, 2003).

En experimentos de campo durante 1975 y 1976, parcelas de maíz sembradas con híbridos susceptibles y tratadas con carbofuran para controlar al vector, consistentemente tuvo pocas plantas con síntomas de *P. stewartii* comparado con parcelas no tratadas (Ayers *et al.*, 1979). Carbofuran bandeado sobre las hileras e

incorporado en la plantación reduce substancialmente la alimentación de *C. pulicaria* y por lo tanto la incidencia de la marchitez bacteriana (Heichel *et al.*, 1977).

En algunas áreas de Estados Unidos donde la marchitez bacteriana es endémica, la incidencia de la infección sistémica ha sido reducida del 50 al 85% por controlar la pulga saltona con aplicaciones de tratamiento a la semilla con insecticidas tales como imidacloprid, thiamethoxam y clothianidin. El tratamiento a la semilla con insecticidas también puede ser usado para reducir el establecimiento de *P. stewartii* en áreas donde la bacteria puede ser introducida en semilla (Munkvold *et al.*, 1996).

d) Semilla libre de la enfermedad. La semilla infectada no tiene mucha importancia en la epidemiología de la marchitez bacteriana en áreas donde la enfermedad es endémica; sin embargo, la bacteria puede ser excluida de áreas donde nunca se ha presentado para asegurar que la semilla este libre de la enfermedad. La probabilidad de transmitir *P. stewartii* en semilla es extremadamente baja, pero acerca de 60 países tienen algún tipo de restricción cuarentenaria en semilla de maíz para evitar la introducción de *P. stewartii* (Pataky, 2003).

La producción de semilla en áreas donde la marchitez bacteriana no se presenta asegura que *P. stewartii* no se introduzca en la semilla, además las inspecciones de campos de producción de maíz puede proveer una declaración adicional de cuales semillas no contienen *P. stewartii*. Si las plantas productoras de semilla no son infectadas sistemicamente, la probabilidad de introducir *P. stewartii* en semilla es cercana a cero, sin embargo, si algunas plantas son infectadas sistemicamente, se pueden usar pruebas de sanidad de semilla como la prueba de ELISA que ha sido aprobada por el Sistema Nacional de Sanidad de Semillas (USDA) siempre y cuando se realice con una muestra representativa de semilla para asegurar que la probabilidad de infección de la semilla

con *P. stewartii* sea baja y de aceptable umbral (Pataky, 2003).

e) Control biológico. Para *P. stewartii* no se ha desarrollado adecuadamente el uso del control biológico. Un bacteriófago de *P. stewartii* fue aislado de *C. pulicaria* y parcialmente caracterizado de acuerdo al rango de hospederos (Woods *et al.*, 1981). Debido a que *P. stewartii* se encuentra cuarentenada en México de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-018-FITO-1995 (SAGARPA, 1996) y debido a que existen reportes de Cabrales y Fucikovsky (1975) y Ávila *et al.* (1999) de la presencia de la bacteria en México se plantean para este trabajo los objetivos siguientes: 1. Confirmar la presencia de *P. stewartii* en el Valle Central de México, 2. Determinar si las cepas de *P. stewartii* aisladas en las diferentes localidades del Valle Central de México (Valencia-Torres *et al.*, 2004) son patogénicas, 3. Estudiar si existe alguna diferencia de virulencia en seis genotipos de maíz entre las cepas aisladas, en comparación con la cepa de referencia 29228 de *P. stewartii* de American Type Culture Collection (ATCC, www.atcc.org).

LITERATURA CITADA

1. Anonimo, 1983. Reappearance of *Erwinia stewartii* in the Po Valley. FAO Plant Protection Bulletin 31, 2:96.
2. Ávila, G., L. Fucikovsky, D. Jeffers, D. De la I. de Bauer, M. López, y J. Molina. 1999. Distribución de *Pantoea (Erwinia) stewartii* en maíz en los Valles Altos de México. Memorias XLV Reunión Anual Programa Cooperativo Centroamericano para el Mejoramiento de Cultivos y Animales (PCCMCA). Cd. de Guatemala, Guatemala. Resumen. 58 p.

3. Ayers J.E., A.A. MacNab, R.C. Tetault, J.O. Yocum. 1979. The influence of selected insecticides on yield and incidence of Stewart's wilt in sweet corn. *Plant Disease Reporter* 63:634-638.
4. Block, C.C., J.H. Hill, and D.C. McGee. 1999. Relationship between late-season severity of Stewart's bacterial wilt and seed infection in maize. *Plant Disease* 83:527-530.
5. Bradbury, J.F. 1967. *Erwinia stewartii*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria, No. 123. Wallingford, UK: CAB International.
6. Bradshaw-Rouse, J.J., M.H. Whatley, D.L. Coplin, A. Woods, L. Sequeira, A. Kelman. 1981. Agglutination of *Erwinia stewartii* strains with a corn agglutinin: correlation with extracellular polysaccharide production and pathogenicity. *Applied and Environmental Microbiology* 42, 2:344-350.
7. Braun, E.J. 1982. Ultrastructural investigation of resistant and susceptible maize inbreds infected with *Erwinia stewartii*. *Phytopathology* 72,1:159-166.
8. CAB International. 2003. Crop Protection Compendium, Global Module, 5th edition. CD Rom Wallingford, UK, CAB International.
9. Cabrales, L., y L. Fucikovsky. 1975. Bacteriosis del maíz en el Valle de Toluca, México. *Agrociencia* 22:51-60.
10. Claflin, L.E. 1999. Stewart's bacterial wilt. pp. 3-4. In: D.G. White (ed.). Compendium of Corn Diseases. Third edition. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA. 78 p.
11. CMI, 1987. Distribution Maps of Plant Diseases, No. 41, Edition 4. Wallingford, UK: CAB International.
12. Elliot, C. 1938. Bacterial wilt of sweet corn in Mexico. *Phytopathology* 28:443-444.

13. Esker, P.D., and F.W. Jr. Nutter. 2002. Assessing the risk of Stewart's disease of corn through improved knowledge of the role of the corn flea beetle vector. *Phytopathology* 92:668-670
14. Frutchey C.W. 1936. A study of Stewart's disease of sweet corn, caused by *Phytomonas stewartii*. Michigan State University Agricultural Experiment Station Technical Bulletin 152:1-25
15. Fucikovsky, L., M. Moreno, y D. Téliz. 1972. Datos preliminares sobre la bacteriosis de maíz en el Valle de Toluca. *Agrociencia*, serie D, 9:55-68.
16. Guo Y., Z. Liang, D. Yu. 1982. Nigrosine medium -- selective medium for isolation of *Erwinia stewartii* from imported corn. *Acta Microbiologica Sinica* 22, 4:339-344.
17. Heichel, G.H., D.C. Sands, J.B. Kring. 1977. Seasonal patterns and reduction by carbofuran of Stewart's bacterial wilt of sweet corn. *Plant Disease Reporter* 61, 3:149-153.
18. Khan, A., S.M. Reis, J.K. Pataky. 1996. Transmission of *Erwinia stewartii* through seed of resistant and susceptible field and sweet corn. *Plant Disease* 80: in press.
19. Lamka, G.L., J.H. Hill, D.C. McGee, E.J. Braun. 1991. Development of an immunosorbent assay for seedborne *Erwinia stewartii* in corn seeds. *Phytopathology* 81, 8:839-846; 18 ref.
20. McGee, D.C. 1996. Major pest and diseases impacting seed production - Stewart's Wilt. In: *Proceedings of the Eighteenth Annual Seed Technology Conference*. Ames, USA: Iowa State University, 43-50.
21. Michener, P.M., and J.K. Pataky. 2002. Stewart's wilt reactions of South African maize varieties inoculated with *Erwinia stewartii* in field and greenhouse trials. *African Plant Protection* 8,1&2:33-40.

22. Michener, P.M., J.K. Pataky, and D.G. White. 2002. Transmission of *Erwinia stewartii* from plants to kernels and reactions of corn hybrids to Stewart's wilt. *Plant Disease* 86, 2:167-172
23. Munkvold G.P., D.C. McGee, A. Iles. 1996. Effects of imidacloprid seed treatment of corn on foliar feeding and *Erwinia stewartii* transmission by the corn flea beetle. *Plant Disease* 80:747-749.
24. Pataky, J.K., J.M. Headrick, and Suparyono. 1988. Clasification of sweet corn hybrid reactions to common rust, northern leaf blight, Stewart's wilt, and Goss' wilt and associated yield reductions. *Phytopathology* 78, 2:172-178.
25. Pataky, J.K. 1999. Rusts. pp. 35-38. In: D.G. White (ed.). *Compendium of Corn Diseases*. Third edition. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA. 78 p.
26. Pataky, J.K. 2003. Stewart's wilt of corn. <http://www.apsnet.org/online/feature/stewarts>.
27. Pepper, E.H., 1967. Stewart's Bacterial Wilt of Corn. Monograph No. 4. The American Phytopathological Society at the Heffernan Press, INC., Worcester, Mass., USA. 36 p.
28. Rand F.V. and L.C. Cash 1933. Bacterial wilt of corn. United States Department of Agriculture Technical Bulletin 362:1-32.
29. Anuario estadístico de la producción agrícola. 2003. http://www.siap.sagarpa.gob.mx/ar_comagri.html.
30. Situación actual y perspectiva de la producción de maíz en México. 1990-1999. (<http://www.siea.sagarpa.gob.mx/Publicaciones/Archivos/Maiz90-99.pdf>).

31. SAGARPA. 1996. Norma Oficial Mexicana NOM-018-FITO-1995, por la que se establece la cuarentena exterior para prevenir la introducción de plagas de maíz. Diario Oficial, 5 de diciembre de 1996. Primera sección 7-14.
32. SARH. 1992. Guía fitosanitaria para el cultivo de maíz. Serie Sanidad Vegetal. México, D.F.
33. Stevens, N.E. and C.M. Haenseler. 1941. Incidence of bacterial wilt of sweet corn, 1935-1940: Forecasts and performance. Plant Disease Reporter 25:152-157.
34. Suparyono and J.K. Pataky. 1989. Relationships between incidence and severity of Stewart's and Goss's bacterial wilt and yield of sweet corn hybrids. Crop Protection 8:363-368.
35. Valencia-Torres N., M. Mezzalama, D. Jeffers, y S.G. Leyva-Mir. 2004 Detección de marchitez bacteriana del maíz, *Pantoea stewartii* (Smith) Mergaert, Verdonck y Kesters, en el Valle Central de México. Revista Mexicana de Fitopatología 22:308-314.
36. Wilson, W.J., H.R. Dillard, and S.V. Beer. 1999. Assessment of phenotypic variability in *Erwinia stewartii* based on metabolic profiles. Plant Disease 83, 2:114-118.
37. Woods, T.L., H.W. Israel, A.F. Sherf. 1981. Isolation and partial characterization of a bacteriophage of *Erwinia stewartii* from the corn flea beetle, *Chaetocnema pulicaria*. Protection Ecology 3, 3:229-236.

CAPITULO II

DETECCIÓN DE LA MARCHITEZ BACTERIANA DEL MAÍZ, *Pantoea stewartii* (Smith, 1898) Mergaert *et al.*, 1993, EN EL VALLE CENTRAL DE MÉXICO¹

Noemí Valencia-Torres, Mónica Mezzalama, CIMMYT Int., km 45 Carr. México-Veracruz, El Batán, Texcoco, Edo. de México CP 56130; Santos Gerardo Leyva-Mir, Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Parasitología Agrícola, km 38.5 Carr. México-Texcoco, Chapingo, Edo. de México CP 56230; y Daniel P. Jeffers, CIMMYT Int. Correspondencia: n.valencia@cgiar.org

RESUMEN

En los años 2001 y 2002 se muestrearon plantas de maíz en 61 y 26 localidades, respectivamente, del Valle Central de México, zona que abarca parte de los estados de México, Hidalgo, Tlaxcala, Puebla y Veracruz entre 1167 y 2811 msnm, para detectar la presencia y la distribución de la marchitez bacteriana de Stewart, causada por la bacteria *Pantoea stewartii*. Las hojas de plantas con los síntomas típicos de la enfermedad se llevaron al laboratorio para ser analizadas con la prueba de ELISA utilizando antisueros comerciales. En el 2001 el 43.5%, y en el 2002 el 78.6% de las muestras recolectadas resultaron positivas a la bacteria con la prueba de ELISA. Estos resultados indican que la

¹ Valencia-Torres, N., M. Mezzalama, S.G. Leyva-Mir, y D.P. Jeffers. 2004. Revista Mexicana de Fitopatología 22:308-314

enfermedad está presente en forma esporádica en México, como lo habían reportado otros autores anteriormente.

Palabras claves adicionales: Marchitez bacteriana de Stewart, distribución.

ABSTRACT

In 2001 and 2002 maize plants were surveyed at sixty-one and twenty-six sites located in the Central Valley of Mexico, respectively, which comprise the states of Mexico, Hidalgo, Tlaxcala, Morelos, Puebla and Veracruz between 1167 and 2811 masl, for the presence of *Pantoea stewartii*, the causal agent of Stewart's wilt disease of maize. Leaves of plants showing disease symptoms were taken to the laboratory and analyzed with ELISA test using commercial kits. In 2001, 43.5% of the collected leaf samples reacted positively to the ELISA test, as did 78.6% of samples in 2002. These results confirm that the disease is present sporadically in Mexico, as reported previously by other authors.

Additional keywords: Stewart's wilt, distribution.

INTRODUCCIÓN

La marchitez bacteriana del maíz, también llamada enfermedad de Stewart, bacteriosis o marchitez bacteriana es causada por *Pantoea stewartii* (Smith, 1898) Mergaert *et al.* 1993 syn. *Erwinia stewartii* (Smith, 1898). Es considerada una enfermedad de importancia cuarentenaria por ser transmisible por semilla, en México está regulada por

la Norma Oficial Mexicana NOM-018-FITO-1995 (SAGARPA, 1996). Otros 60 países del mundo requieren que la semilla de maíz sea certificada como libre de *P. stewartii* antes de permitir su importación (Block *et al.*, 1998). La enfermedad puede presentarse en diferentes etapas de desarrollo de la planta de maíz (Pepper, 1967) y generalmente ocurre en dos fases. En la primera, las plántulas se infectan de forma sistémica y se marchitan rápidamente, manifestando síntomas que pueden confundirse con los de sequía, deficiencia nutricional o daño por insectos (Claflin, 1999). La segunda fase de esta enfermedad se manifiesta como tizón de la hoja y es más común. Las lesiones en las hojas son de color verde pálido a amarillo verdoso y se desarrollan como líneas a lo largo de las venas; usualmente se originan en el sitio de alimentación de los vectores primarios de la enfermedad en el campo. Si la enfermedad es severa, las hojas completas pueden morir y secarse prematuramente, quedando expuestas al ataque de hongos en tallo y raíz; sin embargo, la fase de tizón de la hoja no es tan grave como la fase de infección sistémica en plántulas, la cual destruye completamente las plantas (Claflin, 1999).

Esta enfermedad es diseminada también por insectos. En el campo la propagan coleópteros, comúnmente llamados “pulgas saltonas” y “diabroticas”, de las especies *Chaetocnema pulicaria* Melscheimer, *C. denticulata* Illiger, *Diabrotica undecimpunctata* Howardi Barber, *Hylemya cilicrura* Rondani, *Agriotes mancus* Say y *Phyllophaga* sp. *C. pulicaria* es la especie más importante porque la bacteria sobrevive dentro del cuerpo del insecto en el invierno y se ha corroborado que es el vector más significativo desde del punto de vista epidemiológico (Esker y Nutter, 2002 y 2003). En la primavera, los adultos diseminan la bacteria al alimentarse de las plantas de maíz y otros pastos que pueden ser hospederos secundarios del patógeno. Dado que varias generaciones de *C.*

pulicaria son producidas durante la etapa de crecimiento de las plantas de maíz, la severidad de la enfermedad está directamente relacionada con los niveles de población de estos coleópteros (Claflin, 1999). Stewart (1897) y Smith (1909), citados por CABI (2003), proporcionaron pruebas de la transmisión por semilla al lograr desarrollar la enfermedad en plantas producidas en campo e invernadero a partir de semilla proveniente de plantas infectadas. En trabajos sucesivos, se encontró que semillas de plantas infectadas transmitieron el patógeno a las plántulas en un 10.6% al ser sembradas en cultivo en agar y en un 13% en condiciones de invernadero en ausencia de otras fuentes de inóculo (Frutchey, 1936). Pese a que no se ha demostrado aún la transmisión de *P. stewartii* por semilla en condiciones de campo (Khan *et al.*, 1996; Block *et al.*, 1998; Claflin, 1999), se considera que la marchitez bacteriana puede causar problemas en la producción de semilla y provoca pérdidas de producción.

Esta enfermedad fue reportada por primera vez en 1897 en Estados Unidos, donde se considera endémica (Claflin, 1999, CABI 2003), y su presencia ha sido confirmada en Austria, Brasil, Bolivia, Canadá, Costa Rica, Guyana, India, México (distribución restringida), Perú y Puerto Rico (CABI, 2003). La enfermedad ha sido erradicada en China, la Confederación Rusa, Grecia, Italia, Malasia, Polonia, Rumania, Tailandia y Vietnam (CABI, 2003). En México se detectó por primera vez en 1937 por Elliot (Elliot, 1938), quien realizó aislamientos de hojas con síntomas de marchitez bacteriana recolectadas en Orizaba y Jalapa, (Veracruz) quien también reportó la presencia del vector *C. pulicaria*. En 1967, algunos híbridos de maíz fueron atacados por un patógeno en el Valle de Toluca, en las localidades de Almoloya de Juárez, Villa de Allende, Villa Victoria, Zinacantepec, Toluca, Lerma, Tenango del Valle, Capulhuac y Tianguistenco.

Dicho patógeno, que resultó ser una bacteria parecida a *P. stewartii*, causó necrosis en las hojas y pudrición del tallo, y destruyó hasta un 40% de las plantas en algunas zonas de cultivo (Fucikovsky *et al.*, 1972). Debido a que hubo una alta incidencia de esta infección durante los primeros años de la década de 1970, en 1975 Cabrales y Fucikovsky realizaron otros estudios e identificaron el patógeno como *P. stewartii*. Actualmente se reporta la presencia de la marchitez bacteriana en México con distribución restringida, como ya se mencionó (CABI, 2003). Según un estudio realizado por Jeffers y Velázquez en 1997 (Ávila *et al.*, 1999), la enfermedad se encuentra presente en ciertas localidades del Valle Central de México, zona que abarca partes de los estados de México, Hidalgo, Tlaxcala, Puebla, Oaxaca y Veracruz. El presente trabajo tiene como objetivo confirmar la presencia de *P. stewartii* en el Valle Central de México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó la búsqueda de plantas con síntomas similares a los ocasionados por *P. stewartii* en el Valle Central de México, específicamente en los estados de Hidalgo, México, Morelos, Puebla, Tlaxcala y Veracruz. Se tomó como referencia para realizar los recorridos el reporte de Jeffers y Velázquez (1997). Los muestreos se efectuaron en diferentes localidades en los meses de julio y agosto de los años 2001 y 2002 (Figura 1 y 2). Se registraron las coordenadas geográficas de cada localidad muestreada, utilizando el Sistema de Posicionamiento Global (Garmin ® GPS38 Personal Navigator). En los muestreos se seleccionaron plantas que presentaban síntomas similares a los ocasionados por *P. stewartii*, según lo descrito por Claflin (1999). El número de hojas recolectadas

por localidad fue variable (de 1 a 43 hojas), dependiendo de la frecuencia de plantas con síntomas que se encontraban en el campo. Las muestras de hojas se mantuvieron a baja temperatura colocandolas en una hielera durante el trayecto del área de recolección al laboratorio, donde fueron sometidas a la prueba de inmunoabsorción enzimática (ELISA) (Blakemore, 1999) utilizando los antisueros para la detección de *P. stewartii* producidos por AGDIA® (www.agdia.com) y el protocolo sugerido por la misma compañía. Cada placa de ELISA incluyó las muestras, un testigo negativo, uno positivo y un control con búfer de extracción, colocados en dos pozos contiguos que representaron dos repeticiones. Para la lectura de placas se utilizó un lector de microplacas marca Dynatech® MR700, con filtro de 405 nm. Se consideró positiva una muestra cuando el promedio del valor de la absorbancia de los dos pozos que la contenían era tres veces mayor que el promedio de los pozos que contenían el control negativo.

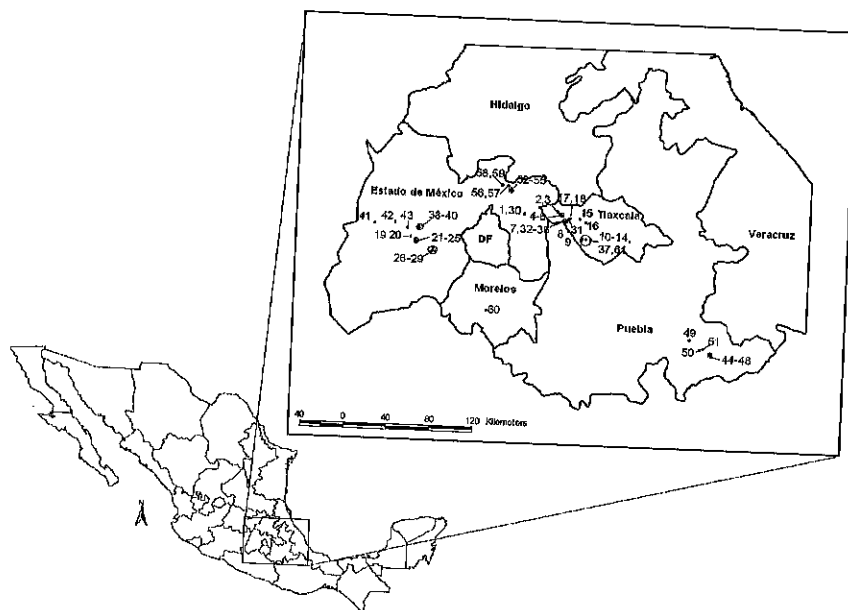


Figura 1. Localidades muestreadas en el año 2001 para detectar la presencia de *P. stewartii* en maíz.

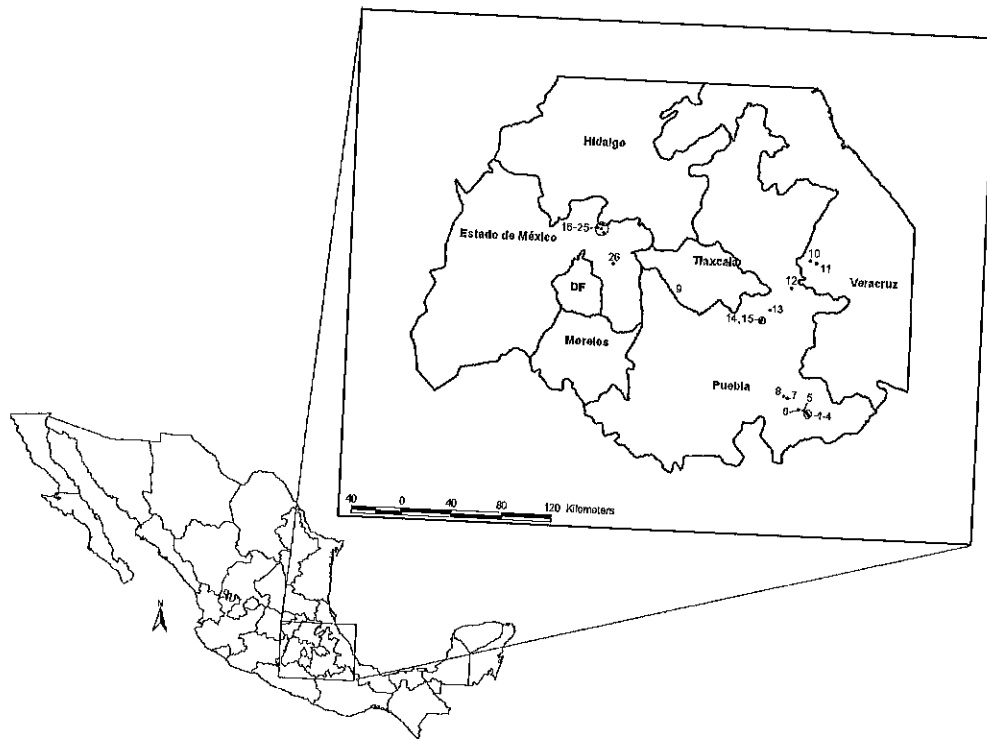


Figura 2. Localidades muestreadas en el año 2002 para detectar la presencia de *P. stewartii* en maíz.

De las muestras que resultaron positivas se procedió a realizar un aislamiento en cajas de petri con medio de cultivo 523 (Kado, 1980). Con ese fin, se maceró en búfer PBS (pH 7.2) por 10 min una porción de tejido con síntomas, previamente desinfectado con hipoclorito de sodio al 1% durante 1 min. y el macerado se estró en las cajas petri. Las cajas se incubaron durante 48 h a 28°C. Las colonias bacterianas que se desarrollaron fueron aisladas, purificadas y sometidas nuevamente a la prueba de ELISA para confirmar que se trataba de *P. stewartii*. En el ciclo 2002 se repitieron los muestreos en las localidades donde el año anterior se encontraron plantas positivas a *P. stewartii* y en otras que no habían sido muestreadas en 2001. Las muestras de hojas recolectadas se sometieron al mismo procedimiento de detección que en el año 2001.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el ciclo 2001 se recorrieron 61 localidades en los estados de México, Tlaxcala, Morelos y Puebla (Figura 1), donde se recolectaron 310 muestras de hojas, de las cuales 133 resultaron positivas a la prueba de ELISA (Cuadro 1).

Los síntomas observados en las muestras fueron lesiones alargadas con bordes irregulares (Figura 3 y 4) que coincidieron con la descripción de Claflin (1999).

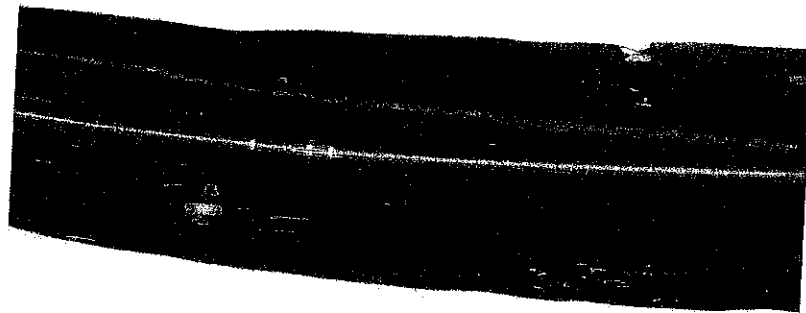


Figura 3. Muestra de hoja de maíz (*Zea mays* L.) con lesión alargada y bordes irregulares, colectada en Altepexi, Puebla, en julio 2001.



Figura 4. Muestra con síntomas avanzados, colectada en Zinacatepec, Puebla, en julio 2001.

Cuadro 1. Muestreo para detección de *P. stewartii* en el Valle Central de México en el año 2001.

Fecha	No. de Localidad	Altitud (msnm)	Coordenadas		Municipio	Estado	No. Muestras	No. muestras positivas
			N	W				
10-Jul-01	1	2326	19.52839	98.84574	Texcoco	México	11	8
27-Jul-01	19	2779	19.29527	99.77718	Zinacantepec	México	2	0
27-Jul-01	20	2782	19.2943	99.77632	Zinacantepec	México	2	0
27-Jul-01	21	2810	19.26161	99.74116	Zinacantepec	México	3	0
27-Jul-01	22	2805	19.26258	99.73986	Zinacantepec	México	2	0
27-Jul-01	23	2803	19.26108	99.73654	Zinacantepec	México	1	0
27-Jul-01	24	2802	19.26117	99.73576	Zinacantepec	México	5	0
27-Jul-01	25	2811	19.25474	99.73358	Zinacantepec	México	3	0
27-Jul-01	26	2616	19.20069	99.58527	Chapultepec	México	3	0
27-Jul-01	27	2641	19.17946	99.59494	Calimaya	México	3	0
27-Jul-01	28	2679	19.16914	99.60686	Calimaya	México	2	0
					Cerca a entrada a Sn. Antonio la			
27-Jul-01	29	2588	19.17265	99.57369	Isla	México	2	0
27-Jul-01	30	2326	19.52839	98.84574	Texcoco	México	2	2
					Almoloya de Juárez	México		
10-Aug-01	38	2624	19.39209	99.71165	Juárez	México	3	0
10-Aug-01	39	2647	19.37455	99.70860	Toluca	México	1	0
10-Aug-01	40	2645	19.37224	99.70630	Toluca	México	2	0
10-Aug-01	41	2492	19.40497	100.08074		México	2	0
10-Aug-01	42	2613	19.41664	99.90651	Villa Victoria	México	1	0
					Almoloya de Juárez	México		
10-Aug-01	43	2613	19.37	99.80600	Juárez	México	1	0
18-Aug-01	52	2262	19.73063	98.96422	Tecamac	México	18	9
18-Aug-01	53	2268	19.72547	98.95621	Tecamac	México	15	6
18-Aug-01	54	2297	19.72451	98.95820	Tecamac	México	9	8
18-Aug-01	55	2270	19.73155	98.97076	Tecamac	México	16	15
18-Aug-01	56	2271	19.7688	98.98584	Tecamac	México	43	42
18-Aug-01	57	2269	19.76859	98.98771	Tecamac	México	11	11
18-Aug-01	58	2243	19.77405	99.03844	Zumpango	México	14	4
18-Aug-01	59	2274	19.7761	99.03442	Zumpango	México	4	0
21-Jul-01	2	2656	19.56181	98.57081	Calpulalpan	Tlaxcala	1	0
21-Jul-01	3	2693	19.54928	98.57137	Calpulalpan	Tlaxcala	2	0
					Nanacamilpa de Mariano Arista	Tlaxcala		
21-Jul-01	4	2702	19.53906	98.54868	Nanacamilpa de Mariano Arista	Tlaxcala	1	0
					Nanacamilpa de Mariano Arista	Tlaxcala		
21-Jul-01	5	2701	19.53925	98.54843	Nanacamilpa de Mariano Arista	Tlaxcala	6	0
					Nanacamilpa de Mariano Arista	Tlaxcala		
21-Jul-01	6	2711	19.52173	98.53179	Nanacamilpa de Mariano Arista	Tlaxcala	2	0
					Nanacamilpa de Mariano Arista	Tlaxcala		
21-Jul-01	7	2694	19.48078	98.52219	Nanacamilpa de Mariano Arista	Tlaxcala	1	0
					Ixtacuixtla de Mariano			
21-Jul-01	10	2245	19.32448	98.35814	Matamoros	Tlaxcala	1	0

Cuadro 1. Muestreo para detección de *P. stewartii* en el Valle Central de México en el año 2001.

Fecha	No. de Localidad	Altitud (msnm)	Coordenadas		Municipio	Estado	No. Muestras	No. muestras positivas
			N	W				
21-Jul-01	11	2254	19.32848	98.35814	Ixtacuixtla de Mariano Matamoros	Tlaxcala	1	0
21-Jul-01	12	2238	19.32626	98.33172	Ixtacuixtla de Mariano Matamoros	Tlaxcala	3	0
21-Jul-01	13	2241	19.32165	98.29316	Panotla	Tlaxcala	1	0
21-Jul-01	14	2243	19.32258	98.29287	Panotla	Tlaxcala	3	0
21-Jul-01	15	2615	19.47000	98.33530	Hueyotlipan	Tlaxcala	1	0
21-Jul-01	16	2649	19.49882	98.38961	Hueyotlipan	Tlaxcala	3	0
21-Jul-01	17	2674	19.50372	98.47024	Sanctorum de Lázaro Cardenas	Tlaxcala	1	0
21-Jul-01	18	2672	19.50435	98.46990	Sanctorum de Lázaro Cardenas	Tlaxcala	7	0
28-Jul-01	31	2756	19.48939	98.48366	Sanctorum de Lázaro Cardenas	Tlaxcala	10	0
28-Jul-01	32	2767	19.47428	98.49941	Sanctorum de Lázaro Cardenas	Tlaxcala	5	0
28-Jul-01	33	2788	19.47333	98.49626	Sanctorum de Lázaro Cardenas	Tlaxcala	4	0
28-Jul-01	34	2767	19.47331	98.50097	Sanctorum de Lázaro Cardenas	Tlaxcala	17	0
28-Jul-01	35	2762	19.4711	98.50445	Sanctorum de Lázaro Cardenas	Tlaxcala	3	0
28-Jul-01	36	2762	19.47095	98.50445	Sanctorum de Lázaro Cardenas	Tlaxcala	3	0
28-Jul-01	37	2231	19.32679	98.36513	Ixtacuixtla de Mariano Matamoros	Tlaxcala	3	0
25-Aug-01	61	2230	19.30800	98.36786	Ixtacuixtla de Mariano Matamoros	Tlaxcala	5	4
21-Jul-01	8	2435	19.38902	98.48025	San Matias Tlalancaleca	Puebla	1	0
21-Jul-01	9	2430	19.35093	98.44421	San Matias Tlalancaleca	Puebla	1	0
11-Aug-01	44	1172	18.34299	97.25468	Zinacatepec	Puebla	9	7
11-Aug-01	45	1179	18.34494	97.25663	Zinacatepec	Puebla	4	4
11-Aug-01	46	1186	18.35242	97.26099	Zinacatepec	Puebla	2	1
11-Aug-01	47	1207	18.3622	97.27237	Altepexi	Puebla	2	2
11-Aug-01	48	1226	18.36541	97.27601	Altepexi	Puebla	6	4
11-Aug-01	49	1690	18.48200	97.44415	Tehuacan	Puebla	1	0
11-Aug-01	50	1452	18.39932	97.35473	Altepexi	Puebla	7	2
11-Aug-01	51	1373	18.40902	97.33121	Altepexi	Puebla	8	4
24-Aug-01	60	945	18.68	99.13	Tlaltizapan	Morelos	4	0
TOTAL							310	133

En el estado de México se detectaron 105 muestras positivas, lo cual representa el 58.01% de las muestras recolectadas, y en el estado de Puebla se detectaron 24 muestras positivas, o sea, el 58.53% del total recolectado (Cuadro 2). Estos dos estados presentaron la mayor incidencia de marchitez bacteriana de los cuatro estados de los Valles Centrales que fueron muestreados en 2001.

Cuadro 2. Porcentaje de incidencia de *P. stewartii* por estado, en el 2001.

Estado	No. de muestra	No. muestras positivas	Porcentaje de incidencia
México	181	105	58.01%
Morelos	4	0	0.00%
Puebla	41	24	58.53%
Tlaxcala	84	4	4.76%
Total	310	133	42.90%

En el año 2002 se recorrieron 26 localidades en los estados de México, Hidalgo, Puebla y Veracruz (Figura 2), donde se recolectaron 159 muestras, de las cuales 125 resultaron positivas con la prueba de ELISA (Cuadro 3). La mayor incidencia de muestras positivas se encontró en Hidalgo (93.33%), estado que no fue incluido en el muestreo en 2001. En el estado de México hubo un 86.44% de muestras positivas y en Puebla, un 68.65% (Cuadro 4). Los muestreos llevados a cabo en 2001 y 2002 confirmaron la presencia de la enfermedad en las localidades de Tecamac y Zumpango (estado de México) y en Zinacatepec y Altepexi (Puebla). En el año 2001, no se detectó la presencia de la enfermedad en el Valle de Toluca (Almoloya de Juárez, Calimaya, Chapultepec, San Antonio la Isla, Toluca, Villa Victoria y Zinacantepec) contrariamente a lo reportado por Fucikovsky *et al.* (1972) y Jeffers y Velázquez (1997), quienes sí encontraron la enfermedad en esta zona. Tampoco se detectó la enfermedad en 2001 en Sanctorum de Lázaro Cárdenas y Panotla (Tlaxcala), San Salvador el Seco y Mazapiltepec de Juárez

(Puebla), y Perote (Veracruz) en 2002, lo cual contrasta con lo reportado por Jeffers y Velázquez en 1997, quienes encontraron que las muestras recolectadas en estos lugares eran positivas. No obstante, al igual que Jeffers y Velázquez (1997), en este estudio se detectó la enfermedad en las localidades de Tecamac (Edo. de México) en 2001 y 2002, Altepexi en 2001, Tehuacán, Ajalpan (Puebla) y Tizayuca (Hidalgo) en 2002.

Cuadro 3. Muestreo para detección de *P. stewartii* en el Valle Central de México en el año 2002.

Fecha	No. de Localidad	Altitud (msnm)	Coordenadas		Municipio	Estado	No. Muestras	No. Muestras Positivas
			N	W				
Julio 14, 2002	1	1167	18.34527	97.25675	Zinacatepec	Puebla	13	12
Julio 14, 2002	2	1206	18.35834	97.26953	Ajalpan	Puebla	9	8
Julio 14, 2002	3	1247	18.37171	97.28321	Altepexi	Puebla	12	10
Julio 14, 2002	4	1266	18.37615	97.29065	Altepexi	Puebla	4	4
Julio 14, 2002	5	1322	18.39055	97.30730	Altepexi	Puebla	4	3
Julio 14, 2002	6	1429	18.39202	97.35041	Altepexi	Puebla	6	4
Julio 14, 2002	7	1696	18.48062	97.44202	Tehuacan	Puebla	2	0
Julio 14, 2002	8	1718	18.49446	97.46717	Tehuacan	Puebla	2	1
Julio 14, 2002	9	2240	19.24690	98.37073	San Martín Texmelucan	Puebla	5	4
Julio 21, 2002	12	2424	19.36193	97.44818	Guadalupe Victoria	Puebla	4	0
Julio 21, 2002	13	2374	19.17835	97.61180	San Salvador el Seco	Puebla	1	0
Julio 21, 2002	14	2385	19.09957	97.66941	Mazapiltepec de Juárez	Puebla	1	0
Julio 21, 2002	15	2443	19.08264	97.68183	Mazapiltepec de Juárez	Puebla	4	0
Julio 21, 2002	10	2391	19.58617	97.31234	Perote	Veracruz	2	0
Julio 21, 2002	11	2398	19.56646	97.26039	Perote	Veracruz	1	0
Julio 28, 2002	16	2262	19.73568	98.96006	Tecamac	México	2	2
Julio 28, 2002	17	2270	19.73872	98.96736	Tecamac	México	3	3
Julio 28, 2002	18	2257	19.73362	98.95959	Tecamac	México	3	3
Julio 28, 2002	19	2275	19.73325	98.96599	Tecamac	México	3	3
Julio 28, 2002	20	2253	19.77671	99.03291	Zumpango	México	1	0
Julio 28, 2002	21	2270	19.78559	99.02509	Zumpango	México	3	0
Julio 28, 2002	22	2251	19.77912	99.02469	Zumpango	México	25	25
Julio 28, 2002	23	2260	19.77633	99.01097	Zumpango	México	2	1
Julio 28, 2002	24	2262	19.76801	98.98672	Tecamac	México	13	10
Agosto 7 y 21, 2002	26	2268	19.94500	98.87790	Texcoco	México	4	4
Julio 28, 2002	25	2284	19.81157	98.97739	Tizayuca	Hidalgo	30	28
TOTAL							159	125

Cuadro 4. Porcentaje de incidencia de *P. stewartii* por estado, en el 2002.

Estado	No. de muestras	No. muestras positivas	Porcentaje de incidencia
Hidalgo	30	28	93.33%
México	59	51	86.44%
Puebla	67	46	68.65%
Veracruz	3	0	0.00%
Total	159	125	78.61%

La persistencia de la enfermedad a través de los años en algunas localidades y su ausencia en otras, tal vez se deba a el uso por parte de los agricultores de semilla de variedades resistentes y fluctuaciones en la población del insecto vector *C. pulicara*, que, cuando existen condiciones ambientales que favorecen su supervivencia durante el invierno, contribuye a que se perpetúe el patógeno. Las temperaturas promedio (entre 13 y 22°C) y las precipitaciones promedio (entre 460 y 897 mm) registradas en los últimos 30 años durante la etapa de crecimiento del maíz (de mayo a septiembre), así como las temperaturas anuales (entre 12 y 25°C) y precipitaciones anuales (entre 522 y 1028 mm) (Corbett, 1998; García, 1998) en las localidades de los Valles Centrales donde se realizaron los muestreos en 2001 y 2002, no son factores que limiten el desarrollo de la enfermedad, pues ésta puede ocurrir en un amplio rango de condiciones ambientales (Cuadro, 5). En Estados Unidos, los únicos lugares donde no se presenta la enfermedad son aquéllos donde la temperatura media diaria en los meses de diciembre, enero y febrero es inferior a -3°C en la cual el insecto vector no puede sobrevivir (Stevens, 1934; Stevens and Haenseler, 1941). Desde el punto de vista epidemiológico, es imprescindible que el insecto vector esté presente en el ambiente para difundir la enfermedad a nivel de campo; no obstante, para evitar que la enfermedad se establezca en zonas todavía libres del patógeno, también son esenciales las medidas fitosanitarias que impiden la entrada de semillas infectadas y el uso de genotipos resistentes.

Cuadro 5. Características climatológicas de las localidades muestreadas en el 2001 y 2002.

No. de Localidad	Año de muestreo	Municipio	Estado	Temp. de E.C.	Precip. de E.C.	Temp. Prom. anual	Precip. Prom. anual	Descripción del clima
1	2001	Texcoco	México	16	618	15	772	Templado, subhúmedo
26	2002	Texcoco	México	17	619	16	768	Templado, subhúmedo
19	2001	Zinacantepec	México	13	829	12	1008	Templado, subhúmedo
20	2001	Zinacantepec	México	13	829	12	1008	Templado, subhúmedo
21	2001	Zinacantepec	México	13	848	12	1028	Templado, subhúmedo
22	2001	Zinacantepec	México	13	848	12	1028	Templado, subhúmedo
23	2001	Zinacantepec	México	13	848	12	1028	Templado, subhúmedo
24	2001	Zinacantepec	México	13	848	12	1028	Templado, subhúmedo
25	2001	Zinacantepec	México	13	848	12	1028	Templado, subhúmedo
26	2001	Chapultepec	México	14	730	13	897	Templado, subhúmedo
27	2001	Calimaya	México	14	753	13	921	Templado, subhúmedo
28	2001	Calimaya	México	14	770	13	941	Templado, subhúmedo
29	2001	San Antonio la Isla	México	14	744	13	908	Templado, subhúmedo
30	2001	Texcoco	México	16	618	15	772	Templado, subhúmedo
38	2001	Almoloya de Juárez	México	14	716	13	884	Templado, subhúmedo
39	2001	Toluca	México	14	729	13	899	Templado, subhúmedo
40	2001	Toluca	México	14	729	13	899	Templado, subhúmedo
41	2001		México	15	852	14	1020	Templado, subhúmedo
42	2001	Villa Victoria	México	14	803	13	976	Templado, subhúmedo
43	2001	Almoloya de Juárez	México	14	768	13	939	Templado, subhúmedo
52	2001	Tecamac	México	16	634	15	796	Templado, subhúmedo
53	2001	Tecamac	México	16	634	15	796	Templado, subhúmedo
54	2001	Tecamac	México	16	634	15	796	Templado, subhúmedo
55	2001	Tecamac	México	16	634	15	793	Templado, subhúmedo
56	2001	Tecamac	México	16	635	15	797	Templado, subhúmedo
57	2001	Tecamac	México	16	635	15	797	Templado, subhúmedo
16	2002	Tecamac	México	16	637	15	799	Templado, subhúmedo
17	2002	Tecamac	México	16	634	15	795	Templado, subhúmedo
18	2002	Tecamac	México	16	637	15	799	Templado, subhúmedo
19	2002	Tecamac	México	16	634	15	796	Templado, subhúmedo
24	2002	Tecamac	México	16	635	15	797	Templado, subhúmedo
58	2001	Zumpango	México	17	630	15	791	Templado, subhúmedo
59	2001	Zumpango	México	17	630	15	791	Templado, subhúmedo
20	2002	Zumpango	México	17	631	15	792	Templado, subhúmedo
21	2002	Zumpango	México	16	632	15	793	Templado, subhúmedo
22	2002	Zumpango	México	17	631	15	792	Templado, subhúmedo
23	2002	Zumpango	México	16	634	15	796	Templado, subhúmedo
2	2001	Calpulalpan	Tlaxcala	14	615	13	798	Templado, subhúmedo
3	2001	Calpulalpan	Tlaxcala	13	625	13	812	Templado, subhúmedo

Cuadro 5. Características climatológicas de las localidades muestreadas en el 2001 y 2002.

No. de Localidad	Año de muestreo	Municipio	Estado	Temp. de E.C.	Precip. de E.C.	Temp. Prom. anual	Precip. Prom anual	Descripción del clima
4	2001	Nanacamilpa de Mariano Arista	Tlaxcala	14	608	13	791	Templado, subhmedo
5	2001	Nanacamilpa de Mariano Arista	Tlaxcala	14	608	13	791	Templado, subhmedo
6	2001	Nanacamilpa de Mariano Arista	Tlaxcala	14	605	13	789	Templado, subhmedo
7	2001	Nanacamilpa de Mariano Arista	Tlaxcala	13	624	12	816	Templado, subhmedo
10	2001	Ixtacuixtla de Mariano Matamoros	Tlaxcala	16	577	15	745	Templado, subhmedo
11	2001	Ixtacuixtla de Mariano Matamoros	Tlaxcala	16	577	15	745	Templado, subhmedo
12	2001	Ixtacuixtla de Mariano Matamoros	Tlaxcala	16	573	15	744	Templado, subhmedo
13	2001	Panotla	Tlaxcala	16	567	15	738	Templado, subhmedo
14	2001	Panotla	Tlaxcala	16	567	15	738	Templado, subhmedo
15	2001	Hueyotlipan	Tlaxcala	14	565	13	748	Templado, subhmedo
16	2001	Hueyotlipan	Tlaxcala	14	575	13	758	Templado, subhmedo
17	2001	Sanctorum de Lázaro Cardenas	Tlaxcala	14	598	13	783	Templado, subhmedo
18	2001	Sanctorum de Lázaro Cardenas	Tlaxcala	14	598	13	783	Templado, subhmedo
31	2001	Sanctorum de Lázaro Cardenas	Tlaxcala	14	600	13	784	Templado, subhmedo
32	2001	Sanctorum de Lázaro Cardenas	Tlaxcala	13	605	12	791	Templado, subhmedo
33	2001	Sanctorum de Lázaro Cardenas	Tlaxcala	13	605	12	791	Templado, subhmedo
34	2001	Sanctorum de Lázaro Cardenas	Tlaxcala	13	616	12	807	Templado, subhmedo
35	2001	Sanctorum de Lázaro Cardenas	Tlaxcala	13	616	12	807	Templado, subhmedo
36	2001	Sanctorum de Lázaro Cardenas	Tlaxcala	13	616	12	807	Templado, subhmedo

Cuadro 5. Características climatológicas de las localidades muestreadas en el 2001 y 2002.

No. de Localidad	Año de muestreo	Municipio	Estado	Temp. de E.C.	Precip. de E.C.	Temp. Prom. anual	Precip. Prom. anual	Descripción del clima
37	2001	Ixtacuixtla de Mariano Matamoros	Tlaxcala	16	577	15	745	Templado, subhmedo
61	2001	Ixtacuixtla de Mariano Matamoros	Tlaxcala	16	578	16	743	Templado, subhmedo
8	2001	San Matias Tlalancaleca	Puebla	15	575	14	741	Templado, subhmedo
9	2001	San Matias Tlalancaleca	Puebla	16	569	15	734	Templado, subhmedo
44	2001	Zinacatepec	Puebla	22	720	21	886	Arido, calido
45	2001	Zinacatepec	Puebla	22	720	21	886	Arido, calido
46	2001	Zinacatepec	Puebla	21	746	21	921	Arido, calido
1	2002	Zinacatepec	Puebla	22	720	21	886	Arido, calido
47	2001	Altepexi	Puebla	21	724	21	892	Arido, calido
48	2001	Altepexi	Puebla	21	724	21	892	Arido, calido
49	2001	Tehuacan	Puebla	19	494	18	590	Semiarido, templado
50	2001	Altepexi	Puebla	20	608	19	749	Arido, calido
51	2001	Altepexi	Puebla	20	695	20	857	Arido, calido
3	2002	Altepexi	Puebla	21	749	20	925	Arido, calido
4	2002	Altepexi	Puebla	21	722	20	890	Arido, calido
5	2002	Altepexi	Puebla	21	711	20	879	Arido, calido
6	2002	Altepexi	Puebla	20	608	19	749	Arido, calido
2	2002	Ajalpan	Puebla	21	724	21	892	Arido, calido
7	2002	Tehuacan	Puebla	19	494	18	590	Semiarido, templado
8	2002	Tehuacan	Puebla	19	496	18	594	Semiarido, templado
9	2002	San Martín Texmelucan	Puebla	17	573	16	734	Templado, subhmedo
12	2002	Guadalupe Victoria	Puebla	14	486	13	690	Semiarido, templado
13	2002	San Salvador el Seco	Puebla	15	460	14	582	Templado, subhmedo
14	2002	Mazapiltepec de Juárez	Puebla	15	494	14	613	Templado, subhmedo
15	2002	Mazapiltepec de Juárez	Puebla	14	531	13	658	Templado, subhmedo
60	2001	Tlaltizapan	Morelos	26	897	25	1017	Calido, subhmedo
10	2002	Perote	Veracru	13	735	13	1014	Arido, templado
11	2002	Perote	Veracru	13	751	13	1033	Semiarido, templado
25	2002	Tizayuca	Hidalgo	16	641	15	806	Templado, subhmedo

FUENTE: Corbett, 1998 y García 1998.

E.C. = Estación de crecimiento

CONCLUSIÓN

Estos resultados indican que la enfermedad está presente en forma esporádica en México, como lo habían reportado otros autores anteriormente.

Agradecimientos. Los autores expresan su agradecimiento a Dr. Dave Hodson y M.C Eduardo Martínez Romero (CIMMYT) por la preparación de los mapas y la facilitación de los datos climáticos, y a la Sra. Alma McNab (CIMMYT) por la revisión del manuscrito.

LITERATURA CITADA

1. Ávila, G., L. Fucikovsky, D. Jeffers, D. De la I de Bauer, M. López, y J. Molina. 1999. Distribución de *Pantoea (Erwinia) stewartii* en maíz en los Valles Altos de México. Memorias XLV Reunión Anual Programa Cooperativo Centroamericano para el Mejoramiento de Cultivos y Animales (PCCMCA). Ciudad de Guatemala, Guatemala. Resumen. 58 p.
2. Blakemore, E.J.A., J.R. Law, and J.C. Reeves. 1999. PCR identification of *Erwinia stewartii* and its comparison with two other methods. Seed Science and Technology 27:385-396.
3. Block, C.C., J.H. Hill, and D.C. McGee. 1998. Seed transmission of *Pantoea stewartii* in field and sweet corn. Plant Disease 82:775-780.
4. CAB International. 2003. Crop Protection Compendium, Global Module, 5th edition. CD Rom Wallingford, UK, CAB International.

5. Cabrales, L., y L. Fucikovsky. 1975. Bacteriosis del maíz en el Valle de Toluca, México. *Agrociencia* 22:51-60.
6. Corbett, J.D. 1998. Climate surfaces for Latin America v 2.0. Climate coefficients created using ANUSPLIN, Texas A&M University System, Blackland Research and Extension Center. College Station, Texas, USA. CDROM publication. Resolution: 1 Arc Minute (original data).
7. Claflin, L.E. 1999. Stewart's bacterial wilt. pp. 3-4. In: D.G. White (ed.). *Compendium of Corn Diseases*. Third edition. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA. 78 p.
8. Elliot, C. 1938. Bacterial wilt of sweet corn in Mexico. *Phytopathology* 28:443-444.
9. Esker, P.D., and F.W. Jr. Nutter. 2002. Assessing the risk of Stewart's disease of corn through improved knowledge of the role of the corn flea beetle vector. *Phytopathology* 92:668-670.
10. Esker, P.D., and F.W. Jr. Nutter. 2003. Temporal dynamics of corn flea beetle populations infested with *Pantoea stewartii*, the causal agent of Stewart's disease of corn. *Phytopathology* 93:210-218.
11. Frutchey, C.W. 1936. A study of Stewart's disease of sweet corn, caused by *Phytomonas stewartii*. Michigan State University. Agricultural Experiment Station Technical Bulletin 152:1-25.
12. Fucikovsky, L., M. Moreno, y D. Téliz. 1972. Datos preliminares sobre la bacteriosis de maíz en el Valle de Toluca. *Agrociencia*, serie D, 9:55-68.
13. García, E. 1998. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). "Climas (Clasificación de Koppen, modificado por García)". Escala 1:1000000. México. <http://www.conabio.gob.mx/>.

14. Jeffers, D., and C. Velazquez. 1997. Survey of *Erwinia stewartii* on maize in the highlands of Central Mexico. CIMMYT Report. México, D.F. 44 p.
15. Kado, C.I. 1980. Methods in plant bacteriology. Department of Plant Pathology. University of California Davis. Davis, California, USA. 82 p.
16. Khan, A., S.M. Reis, and J.K. Pataky. 1996. Transmission of *Erwinia stewartii* through seed of resistant and susceptible field and sweet corn. Plant Disease 80:398-403.
17. Pepper, E.H. 1967. Stewart's Bacterial Wilt of Corn. Monograph No. 4. The American Phytopathological Society at the Heffernan Press, INC., Worcester, Mass., USA. 36 p.
18. SAGARPA. 1996. Norma Oficial Mexicana NOM-018-FITO-1995, por la que se establece la cuarentena exterior para prevenir la introducción de plagas de maíz. Diario Oficial, 5 de diciembre de 1996. Primera sección 7-14.
19. Stevens, N.E. 1934. Stewart's disease in relation to winter temperatures. Plant Disease Reporter 18:141-149.
20. Stevens, N.E., and C.M. Haenseler. 1941. Incidence of bacterial wilt of sweet corn, 1935-1940: Forecasts and performance. Plant Disease Reporter 25:152-157.

CAPITULO III
REACCIONES DE PATOGENICIDAD EN SEIS GENOTIPOS DE MAÍZ DE
CEPAS DE *Pantoea stewartii* (Smith, 1898) Mergaert *et al.*, 1993,
AISLADAS EN MÉXICO

Noemí Valencia-Torres, Mónica Mezzalama, CIMMYT Int., km 45 Carr. México-Veracruz, El Batán, Texcoco, Edo. de México CP 56130; **Santos Gerardo Leyva-Mir**, Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Parasitología Agrícola, km 38.5 Carr. México-Texcoco, Chapingo, Edo. de México CP 56230; y **Daniel P. Jeffers**, CIMMYT Int. Correspondencia: n.valencia@cgiar.org

RESUMEN

Ochenta y dos cepas de *Pantoea stewartii* (Smith 1898) Mergaert *et al.* 1993, agente de la marchitez bacteriana del maíz, fueron aisladas de hojas de plantas de maíz colectadas en los estados de México, Tlaxcala e Hidalgo (Valle Central de México). Se inocularon en dos genotipos de maíz clasificados como resistentes, dos clasificados como medianamente resistentes y dos como susceptibles a la enfermedad, para determinar su patogenicidad y su nivel de virulencia, comparados a una cepa de referencia (*P. stewartii* 29228 de American Type Culture Collection). Las pruebas de patogenicidad se llevaron a cabo bajo condiciones de invernadero inoculando las tres hojas más jóvenes de las plántulas 20 días después de la siembra, utilizando un método de punción. Doce días después de la inoculación se efectuó la evaluación de los síntomas en las hojas inoculadas utilizando la escala de evaluación de 0 a 5. Los resultados muestran que las

reacciones de patogenicidad de las 82 cepas fueron estadísticamente diferentes en los seis genotipos. El 100% de las cepas fueron patogénicas en los dos genotipos susceptibles y en uno resistente, el 98.8% fueron patogénicas en los dos genotipos medianamente resistentes y el 66.27% fueron patogénicas en un genotipo resistente. Los valores de virulencia de las 82 cepas llegaron a 3.6 en los genotipos susceptibles, a 2.7 en los genotipos medianamente resistentes y a 1.5 en los genotipos resistentes. Los valores de virulencia de la cepa de referencia ATCC en comparación con los valores de las cepas aisladas en las diferentes localidades del Valle Central de México fueron menores, pero el patrón de reacción de patogenicidad y virulencia fue el mismo. Las reacciones de patogenicidad de las 82 cepas en los seis genotipos demuestran que existe poca variabilidad entre las cepas aisladas en las diferentes localidades del Valle Central de México y se determinó que no existe relación entre la localidad de aislamiento de las cepas y el nivel de virulencia de cada una.

Palabras claves adicionales: Marchitez bacteriana, patogenicidad, virulencia.

ABSTRACT

Eighty two strains of *Pantoea stewartii* (Smith 1898) Mergaert *et al.* 1993, causal agent of Stewart's wilt disease in maize, were isolated from maize leaves collected in the States of Mexico, Tlaxcala, and Hidalgo (Central Highlands of Mexico). These strains were inoculated into two maize genotypes classified as resistant, two classified as moderately resistant, and two classified as susceptible to Stewart's wilt to determine their pathogenicity and their level of virulence compared to a reference strain (*P. stewartii* 29228 from the American Type Culture Collection). The three youngest leaves of 20-day-old seedlings were inoculated under greenhouse conditions using the pinprick

method. Twelve days after inoculation, disease symptoms were evaluated using a scale from 0 to 5. Results showed that the 82 strains gave pathogenicity reactions statistically different in the six genotypes. One hundred per cent of the strains were pathogenic on the two susceptible genotypes and a resistant one; 98.8% were pathogenic on the two moderately resistant genotypes, and 66.27% were pathogenic on the two resistant ones. On the 0 to 5 scale, the 82 strains reached values of up to 3.6 in the susceptible genotypes, 2.7 in the moderately resistant genotypes, and 1.5 in the resistant genotypes. The reference ATCC strain showed lower values but with the same pattern of the Mexican isolates according to genotype classification. The pathogenicity reactions of the 82 strains show there is little variability among strains isolated from the different sites. It also demonstrated there is no correlation between the point of origin of the strain and its level of virulence.

Additional keywords: Stewart's wilt, pathogenicity, virulence.

INTRODUCCIÓN

Pantoea stewartii ocasiona la marchitez bacteriana del maíz, considerada de importancia cuarentenaria en México y otros países del mundo, se transmite a las plantas por la semilla o por el insecto vector *Chaetocnema pulicaria* (Melsheimer) (Block *et al.*, 1998), aunque la probabilidad de introducir o diseminar la bacteria en áreas donde no esta presente, por medio de semilla es baja (Michener, 2002).

En México el patógeno y el vector fueron detectados por primera vez en 1938 (Elliot, 1938) en Orizaba y Jalapa, (Veracruz); posteriormente en 1967 y 1975 fue reportado en el Valle de Toluca (Cabrales y Fucikovsky, 1975). En un estudio realizado en 1997 también se reporta su presencia en siembras de maíz en Texcoco, México; confirmando

en 1998 por medio de un muestreo en los estados de Tlaxcala, México, Veracruz, Hidalgo, Morelos, Oaxaca, Puebla y Michoacán que la bacteria estaba distribuida en cuatro localidades de Tlaxcala, tres localidades de Puebla y dos de Hidalgo (Ávila *et al.*, 1999). La presencia de la enfermedad en el Valle Central (estados de México, Hidalgo, Tlaxcala, Morelos, Puebla y Veracruz) se confirmó en 2001 y 2002 (Valencia-Torres *et al.*, 2004). Sin embargo, es considerada una enfermedad de distribución restringida en México (CABI, 2003). La enfermedad puede aparecer en diferentes etapas de desarrollo de la planta de maíz, por lo tanto puede causar la muerte de plántulas o de plantas en etapas posteriores (Pepper, 1967).

La marchitez bacterial ocurre en dos fases. Una afecta plantas jóvenes, las cuales son infectadas de forma sistémica. Por lo general estas plantas se marchitan rápidamente y pueden confundirse con síntomas de sequía, deficiencia nutricional o daños por insectos. Las hojas presentan lesiones lineales de color verde pálido a amarillas con márgenes irregulares u ondulados, paralelas a las venas y se pueden extender a lo largo de la hoja, estas lesiones se secan rápidamente volviéndose de color café. En ataques severos pueden presentarse daños en tallos, caracterizados por cavidades en la médula de los nudos inferiores. La bacteria coloniza el sistema vascular y puede diseminarse a través la planta (Claflin, 1999).

La segunda fase y más común de esta enfermedad es un tizón de la hoja, usualmente visible después de la floración. Las lesiones en las hojas son de color verde pálido a amarillo verdoso y desarrollan como líneas a lo largo de las venas, usualmente se originan desde el sitio de alimentación de los vectores primarios de la enfermedad en el campo. Si la enfermedad es severa las hojas completas pueden morir y secarse prematuramente quedando expuestas al ataque de hongos en tallo y raíz, sin embargo, la

fase de tizón de la hoja no es tan grave como la fase de infección sistémica en plántulas la cual destruye completamente a estas (Claflin, 1999).

La infección sistémica en etapas tempranas de crecimiento (antes de la etapa de la tercera hoja) puede resultar en la muerte del tallo principal, debido a que el punto de crecimiento es infectado (Pataky *et al.*, 1996, citado por Michener *et al* 2003).

Debido a los adecuados niveles de resistencia en los híbridos de maíz de grano dentado se limita la infección sistémica, restringiendo el movimiento de *P. stewartii* dentro del xilema de plantas infectadas y aunque se produzcan en áreas donde la marchitez bacterial es endémica el rendimiento es poco afectado (Braun, 1992).

Las pérdidas de rendimiento en maíz dulce causadas por la marchitez bacterial dependen de los niveles de resistencia o susceptibilidad de los híbridos y de la etapa de crecimiento en la cual las plantas son infectadas (Pataky, 2003).

La infección sistémica de híbridos de maíz dulce con reacción de moderada a susceptible a la marchitez bacterial reduce el peso y tamaño de mazorca y en algunos casos no se producen mazorcas (Suparyono y Pataky, 1989; citados por Michener *et al* 2002).

Se presentan pérdidas del 40% al 100% cuando híbridos de maíz dulce susceptibles crecen bajo condiciones de epidemia y son infectadas antes de la etapa de la quinta hoja. El rendimiento es reducido alrededor del 0.8% por cada 1% de incidencia de plántulas infectadas sistémicamente (Pataky, 2003).

Pataky, 1988 y Suparyono, 1989 determinaron que el rendimiento de híbridos susceptibles o moderadamente susceptibles es reducido substancialmente cuando las plántulas son infectadas sistémicamente como resultado de inoculación o infección natural antes o aproximadamente en la etapa de la séptima hoja. Si los híbridos son infectados en la etapa de la séptima a la novena hoja o después, el rendimiento no se

reduce mucho (Suparyono, 1989). El rendimiento de híbridos resistentes o moderadamente resistentes no es afectado tan adversamente (menos del 5.6% y entre 5.6 y 11.1% respectivamente) que el rendimiento de híbridos susceptibles (mayor del 13.9%) a pesar de la etapa de crecimiento en la cual las plantas son infectadas, primeramente porque los híbridos resistentes son infectados sistemicamente con menos frecuencia que los híbridos susceptibles (Suparyono, 1989 y Pataky, 1988).

El efecto más importante de la marchitez bacterial es el impacto económico en el comercio de semilla esto debido a las regulaciones fitosanitarias y/o a los costos adicionales por inspecciones fitosanitarias antes de las exportación, como sucede en México que es considerada una enfermedad de importancia cuarentenaria de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-018-FITO-1995 (SAGARPA, 1996), creando costos indirectos en la producción de semilla porque los recursos son usados para producir maíz resistente a la marchitez bacterial y desarrollar híbridos que controlen la enfermedad eficientemente.

El método de control más efectivo es el uso de híbridos resistentes, por lo que se han realizado varios estudios sobre la resistencia a la enfermedad con diferente germoplasma, sin embargo, no se han encontrado estudios que determinen si existe alguna diferencia en cuanto a reacciones de patogenicidad entre cepas. Por tanto el presente trabajo tiene como objetivo determinar si las cepas de *P. stewartii* aisladas en las diferentes localidades del Valle Central de México (Valencia-Torres *et al.*, 2004) son patogénicas; estudiar si existe alguna diferencia de virulencia en seis genotipos de maíz entre las cepas aisladas, en comparación con la cepa de referencia 29228 de *P. stewartii* de American Type Culture Collection (ATCC, www.atcc.org).

MATERIALES Y METODOS

Aislamiento.

Durante el 2002 se realizaron recorridos por el Valle Central de México, comprendiendo los Estados de México, Hidalgo y Puebla, en los cuales se colectaron hojas de maíz con síntomas similares a los ocasionados por *Pantoea stewartii* (Valencia-Torres *et al.*, 2004). Las muestras fueron sometidas a la prueba de inmunoabsorción enzimática (ELISA) (Blakemore, 1999) utilizando los antisueros de AGDIA® y el protocolo sugerido por la misma compañía (www.agdia.com). De las muestras que resultaron positivas se realizaron aislamientos que se conservaron en medio de cultivo 523 hasta realizar la prueba de patogenicidad.

Genotipos de maíz utilizados.

Para la producción de plántulas de maíz se utilizaron seis genotipos diferentes (Cuadro 1), de los cuales dos son clasificados como resistentes, dos moderadamente resistentes y dos susceptibles, de acuerdo a resultados obtenidos en campo bajo inoculaciones artificiales autorizadas por la DGSV, realizadas por el programa de mejoramiento de maíz del CIMMYT (Jeffers 2003, comunicación personal).

Siembra.

La siembra del maíz se efectuó en suelo estéril y en macetas de plástico en invernadero. Se establecieron tres macetas por genotipo, depositando tres semillas en cada maceta; al emerger las plántulas se dejó solamente una por maceta y se eliminaron las otras dos.

Se inocularon 82 cepas de las cuales 43 fueron aisladas en el estado de México, 25 en Puebla y 14 en Hidalgo, y la cepa de referencia 29228 de *P. stewartii* de American Type Culture Collection (ATCC, www.atcc.org) en cada uno de los genotipos y por cada genotipo dentro de un diseño completamente al azar, con tres repeticiones. Se utilizaron dos testigos cada uno con los seis genotipos y un testigo consistió de plántulas sin inocular y el otro de inoculadas con búfer (PBS).

Cuadro 1. Líneas del programa de mejoramiento de maíz de Valles Altos del CIMMYT, con diferente nivel de resistencia a *P. stewartii*, bajo inoculaciones artificiales en campo (Jeffers 2003, comunicación personal).

Genotipo	Pedigree	Comportamiento de los genotipos a la marchitez bacterial
1	POB.903 C0 MH 135-1-4TL-1-1-6-#-#	Resistente
2	POB.903 C0 MH 354-1-4TL-1-2-7-#-#	Resistente
3	CML-239	Moderadamente resistente
4	POB.902 C0 MH 39-1-2TL-1-1-1-#-#	Moderadamente resistente
5	CML-242	Susceptible
6	CML-350	Susceptible

Inoculación de cepas.

Las plántulas se inocularon 20 días después de la siembra, inoculando solamente las tres hojas más jóvenes. Para realizar la inoculación, se utilizó el método de punción descrito por Blanco, 1977, mediante una pinza metálica en la cual en uno de sus extremos se colocó una goma con alfileres y en el otro extremo algodón estéril embebido en la suspensión bacteriana (Figura 1). La suspensión bacteriana se preparó en búfer salino fosfatado (PBS) de pH 7.0 y se midió la concentración de células en la suspensión de

cada cepa con un espectrofotómetro a 590 nm, para ajustarla a 1×10^8 Unidades Formadoras de Colonias (UFC).

La inoculación consistió en presionar las tres primeras hojas entre las pinzas, de tal manera que los alfileres ocasionaron una lesión y por medio del algodón, previamente sumergido en la suspensión, la bacteria penetró por las heridas (Figura 1).

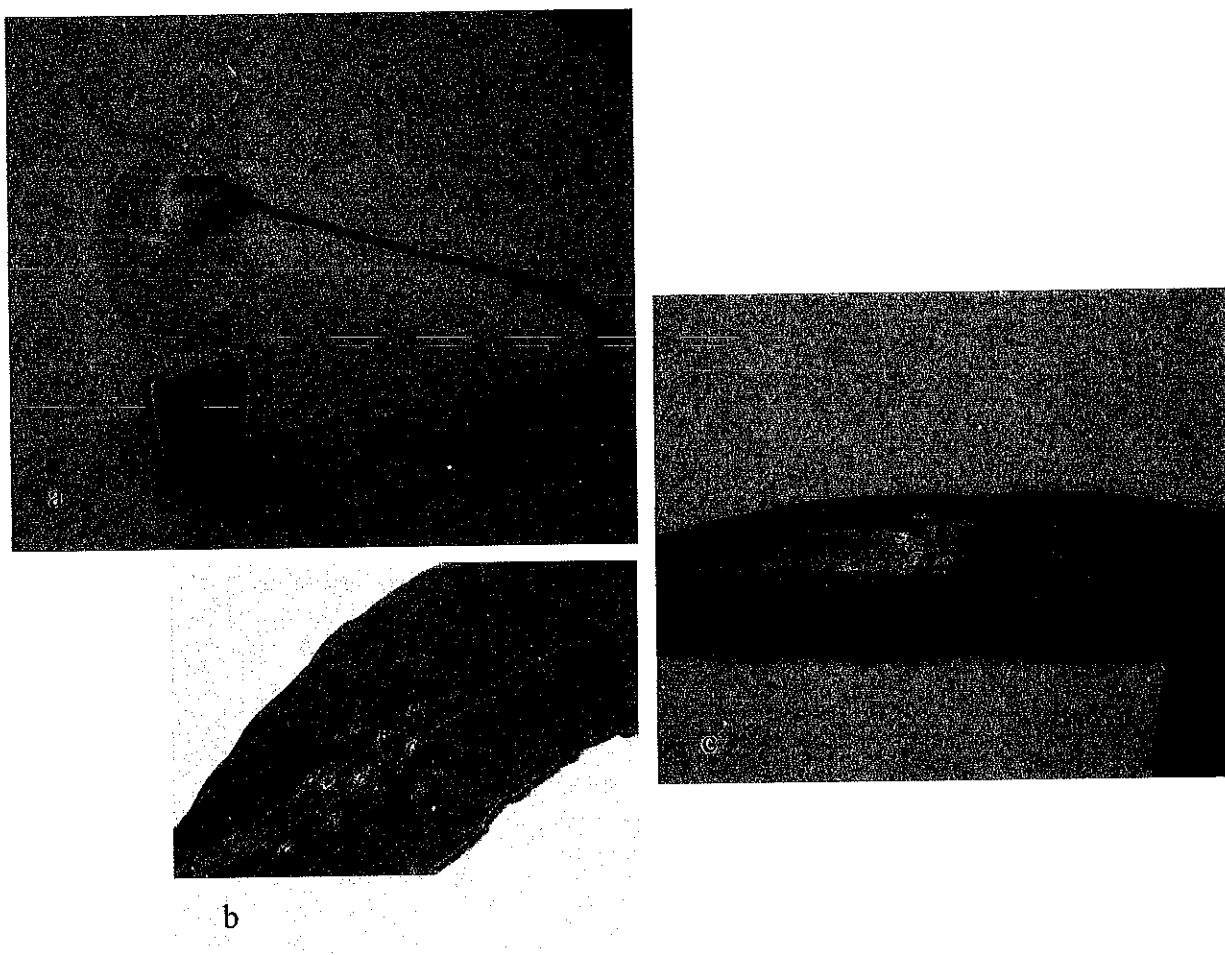


Figura 1. Pinza metálica con alfileres, algodón y suspensión bacteriana (a) lista para inocular en hojas de maíz. Hojas de maíz con perforaciones causadas por los alfileres (b). Síntomas en desarrollo a partir de las lesiones (c).

Evaluación de genotipos inoculados.

Doce días después de la inoculación se efectuó la evaluación en las tres hojas inoculadas utilizando la escala de evaluación de 0 a 5 descrita por Blanco para plantas adultas, 1977, adaptada para plántulas de máximo 5 hojas (Cuadro 2 y Figura 2). Después de la evaluación las plántulas con síntomas fueron llevadas a laboratorio para llevar a cabo la prueba de ELISA y aislamiento y de esta manera cumplir con los postulados de Koch (Valencia-Torres *et al.*, 2004).

Cuadro 2. Escala de evaluación de la reacción de patogenicidad en plántulas de maíz inoculadas con *P.stewartii* (adaptada de Blanco, 1977).

0	Ausencia de síntomas
1	Lesión lineal a partir de la punción hasta aproximadamente 1 cm.
2	Lesión lineal a partir de la punción hasta aproximadamente 3 cm.
3	Lesión lineal a partir de la punción hasta aproximadamente 5 cm.
4	Lesión lineal a partir de la punción hasta aproximadamente 10 cm.
5	Lesión lineal a partir de la punción, más larga de 10 cm. y síntomas sistémicos hasta muerte de la plántula.

Análisis de datos.

Con los resultados de la evaluación de las 3 hojas de cada una de las 3 repeticiones por cepa y para cada uno de los genotipos, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y se hizo una comparación de medias (Tukey, $P \leq 0.05\%$), las medias de los niveles de virulencia de cada cepa fueron ordenados en grupos por su significancia. También se realizó por separado este análisis a los datos obtenidos en la evaluación de la cepa de referencia para comparar el comportamiento de las cepas aisladas en México y de la cepa de referencia en los seis genotipos. Se realizó un análisis de correlación con las medias de las cepas para determinar si existe alguna asociación entre cepas (SAS Institute, 1994).

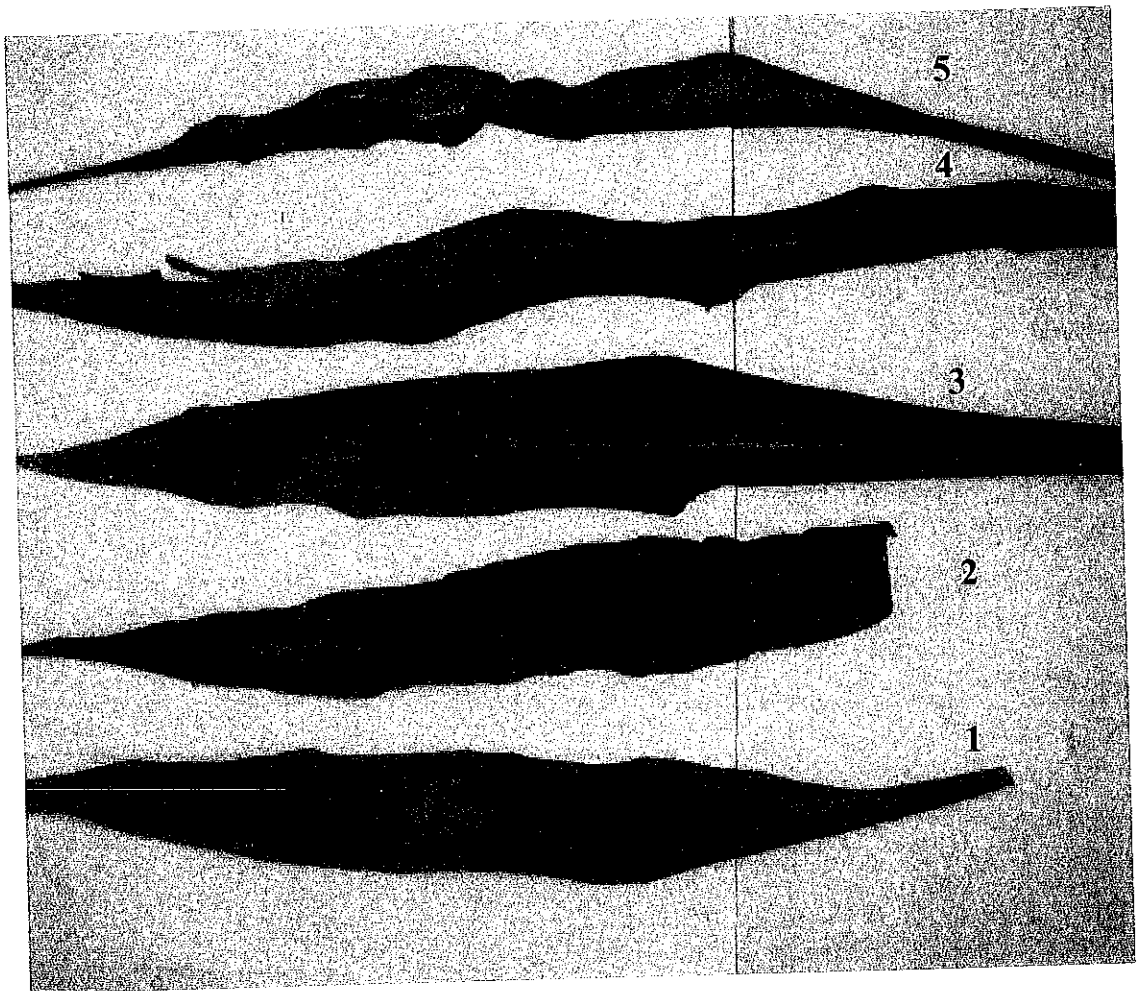


Figura 2. Grado de síntomas en la hoja inoculada, valores de 1 a 5 de acuerdo a la escala de evaluación descrita en el cuadro 2.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza que se realizó para determinar el nivel de virulencia de las cepas de *P. stewartii* en los seis genotipos mostró que los seis son estadísticamente diferentes, siendo el genotipo seis el más susceptible y al genotipo dos el más resistente, con una media de 3.625 y 0.24066 respectivamente coincidiendo con lo obtenido por Jeffers, 2003 (Cuadro 3).

Cuadro 3. Valores de virulencia en los seis genotipos evaluados con las 82 cepas y con la cepa de referencia con base a la escala de evaluación de 0 a 5 (Blanco, 1977).

Genotipo	Comportamiento*	Media de las 82 cepas	Grupo (Tukey P=0.05%)	Media (Cepa de referencia)	Grupo (Tukey P=0.05%)
6	Susceptible	3.62500	A	4.3750	A
3	Moderadamente resistente	2.69158	B	2.3333	B
5	Susceptible	2.59079	C	1.5556	BC
4	Moderadamente resistente	1.79589	D	1.6670	BC
1	Resistente	1.47688	E	1.1250	BC
2	Resistente	0.24066	F	0.1667	C

* Jeffers, comunicación personal

En los grupos de cepas con los valores de virulencia más altos para cada uno de los seis genotipos se encuentran cepas aisladas tanto en el Estado de México, como en Puebla e Hidalgo (Cuadro 4).

Las 82 cepas más la cepa de referencia evaluadas en el genotipo uno fueron patogénicas y mostraron valores de virulencia entre 0.1667 y 3.5714, con una distribución variable de las cepas en los diferentes valores ya que el 32.5% presentaron un valor entre 2.11 y 3.57, el 18.1% entre 1.71 y 2.00 y el 16.9% entre 1.12 y 1.33 (Figura 3); del grupo de cepas que presentó el valor más alto el 74 % fueron aisladas en el Estado de México. En el genotipo dos el 33.73% de las cepas evaluadas no fueron patogénicas y el 66.27% fueron patogénicas y mostraron valores de virulencia entre 0.1111 a 1.0000 (Figura 4); estos datos comprueban que este genotipo es el más resistente por presentar un alto porcentaje de cepas no patogénicas.

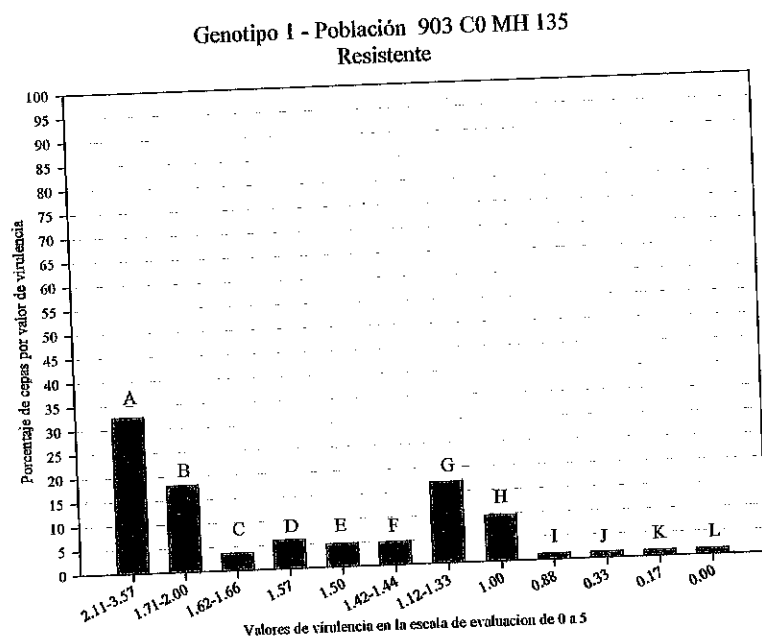


Figura 3. Distribución de los valores de virulencia de las 82 cepas aisladas en el 2002 más la cepa de referencia ATCC en el genotipo 1 de maíz, clasificado como resistente a *P. stewartii*. Letras diferentes indican valores de virulencia estadísticamente diferentes según Tukey ($P=0.05\%$)

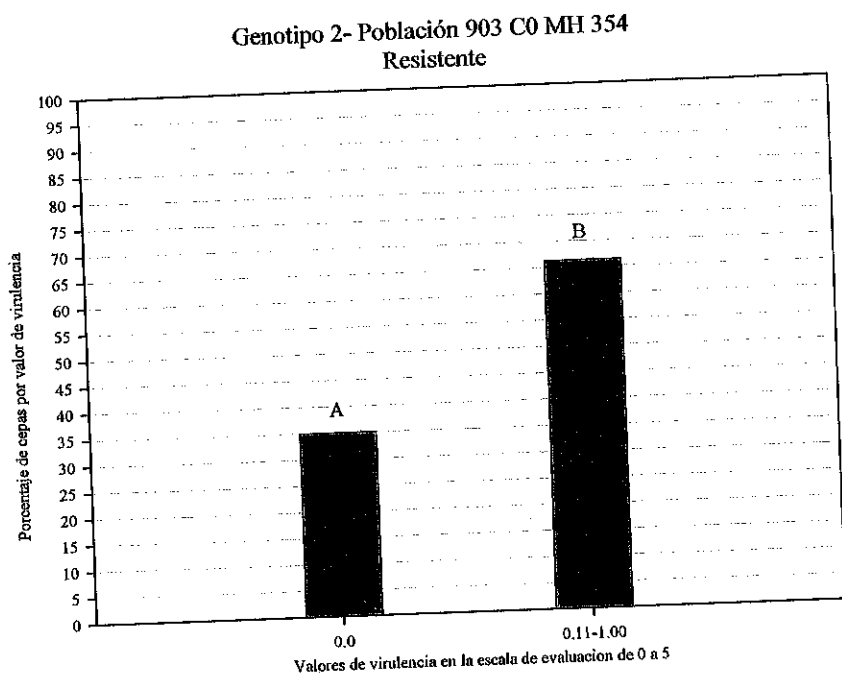


Figura 4. Distribución de los valores de virulencia de las 82 cepas aisladas en el 2002 más la cepa de referencia ATCC en el genotipo 2 de maíz, clasificado como resistente a *P. stewartii*. Letras diferentes indican valores de virulencia estadísticamente diferentes según Tukey ($P=0.05\%$).

En el genotipo tres el 1.2% de las cepas evaluadas no fueron patogénicas y el 98.8% causaron daño y mostraron valores de virulencia entre 0.1429 y 4.7778 (Figura 5), en este genotipo el 59% de las cepas presentó un valor de 3.22 a 4.77 y de estas cepas que presentaron el valor más alto el 59.2% fueron aisladas del Estado de México. En el genotipo cuatro también el 1.2% de las cepas evaluadas no fueron patogénicas y el 98.8% fueron patogénicas y mostraron valores de virulencia entre 0.4286 y 4.1111 (Figura 6), en este genotipo el 34.9% de las cepas evaluadas presentó un valor entre 2.62 y 4.11 y al igual que en los genotipos anteriores el mayor número de cepas de este grupo (65.5%), fueron aisladas en el Estado de México.

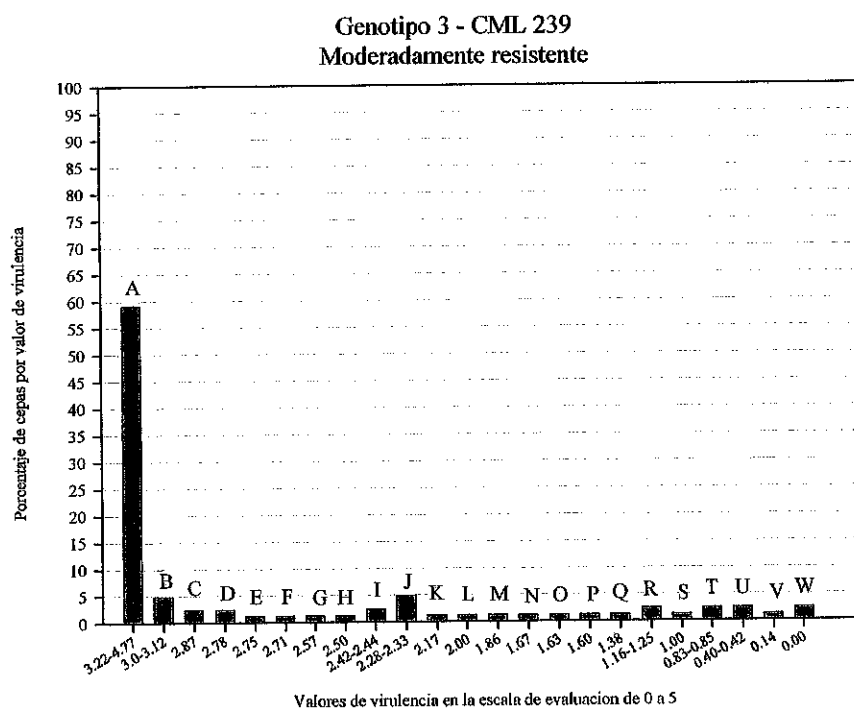


Figura 5. Distribución de los valores de virulencia de las 82 cepas aisladas en el 2002 más la cepa de referencia ATCC en el genotipo 3 de maíz, clasificado como moderadamente resistente a *P. stewartii*. Letras diferentes indican valores de virulencia estadísticamente diferentes según Tukey (P=0.05%)

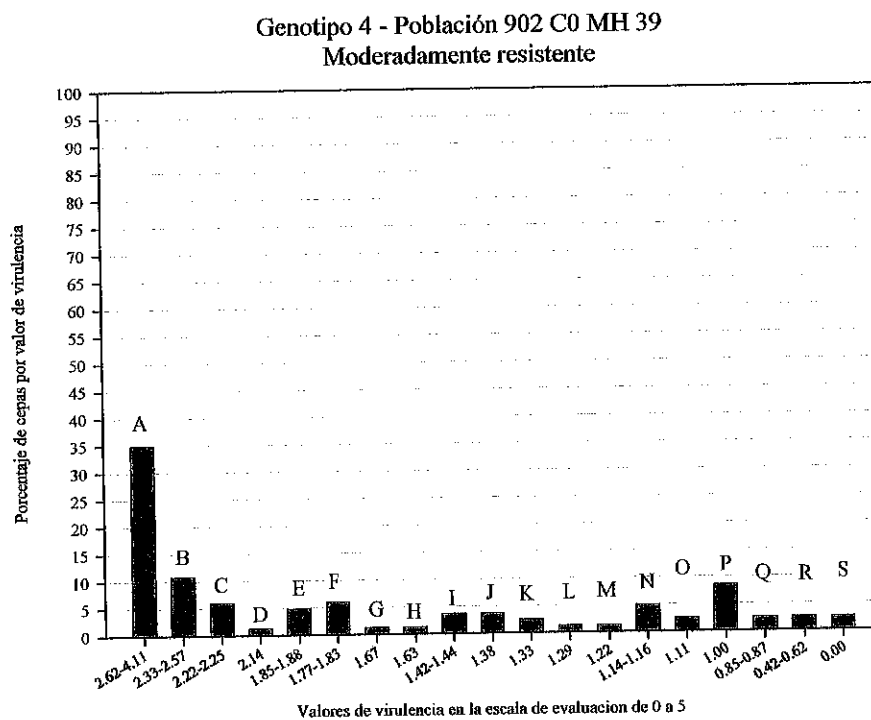


Figura 6. Distribución de los valores de virulencia de las 82 cepas aisladas en el 2002 más la cepa de referencia ATCC en el genotipo 4 de maíz, clasificado como moderadamente resistente a *P. stewartii*. Letras diferentes indican valores de virulencia estadísticamente diferentes según Tukey (P=0.05%)

En el genotipo cinco las 82 cepas más la cepa de referencia evaluadas fueron patógenas y mostraron valores de virulencia entre 0.6667 y 4.5556 (Figura 7), en este genotipo el 56.6% de las cepas presentaron el valor más alto que fue de 3.00 a 4.55, de las cuales el 63.8% fueron aisladas del Estado de México. En el genotipo seis las 82 cepas más la cepa de referencia evaluadas fueron patógenas y los valores de virulencia se distribuyeron entre 2.1250 a 4.8333 (gráfica 6), en este genotipo el 89.2% de las cepas presentaron el valor más alto que fue de 4.00 a 4.883, de las cuales el 52.7% fueron aisladas del Estado de México. Como se puede observar para el genotipo tres, cinco y seis el mayor porcentaje de cepas se concentró en los valores más altos (Figura 5, 7 y 8).

Genotipo 5 - CML 242
Susceptible

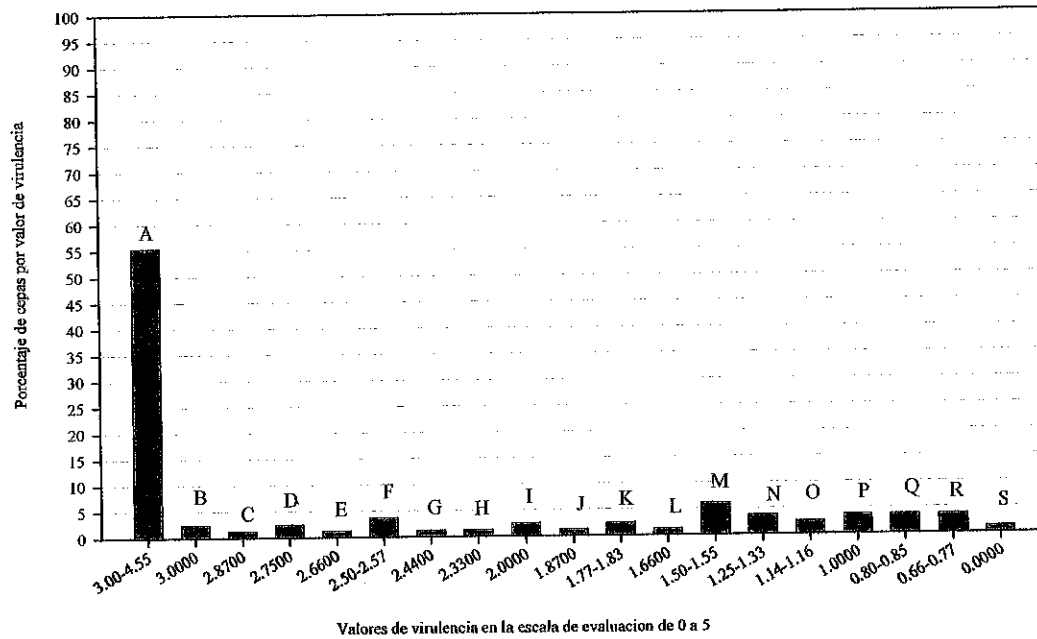


Figura 7. Distribución de los valores de virulencia de las 82 cepas aisladas en el 2002 más la cepa de referencia ATCC en el genotipo 5 de maíz, clasificado como susceptible a *P. stewartii*. Letras diferentes indican valores de virulencia estadísticamente diferentes según Tukey ($P=0.05\%$).

Genotipo 6 - CML 350
Susceptible

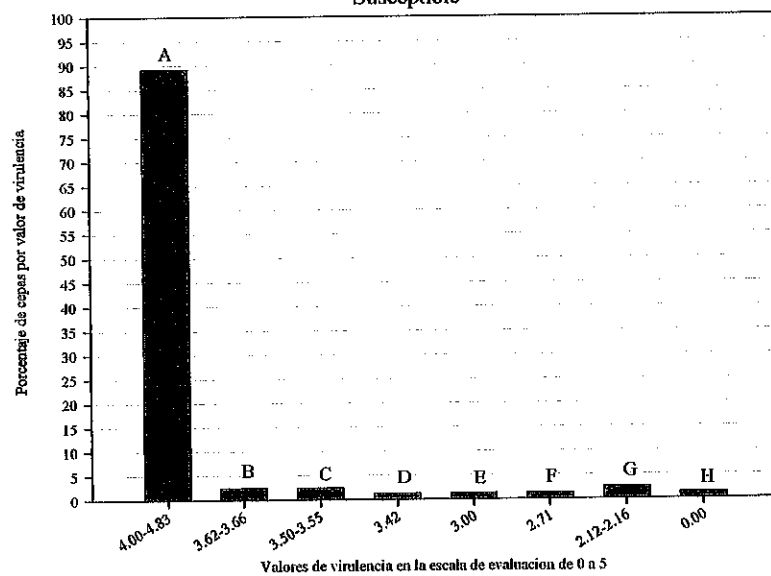


Figura 8. Distribución de los valores de virulencia de las 82 cepas aisladas en el 2002 más la cepa de referencia ATCC en el genotipo 6 de maíz, clasificado como susceptible a *P. stewartii*. Letras diferentes indican valores de virulencia estadísticamente diferentes según Tukey ($P=0.05\%$).

Las cepas de mayor virulencia, con valores estadísticamente significativos en el genotipo seis fueron: las cepas 25_19 y 25_15 ambas aisladas en Tizayuca, Hidalgo y la 18_2 de Tecamac, Estado de México; en el genotipo cinco fueron la 22_14 y 22_17 de Zumpango, 24_7 de Tecamac, Estado de México y la 6_1 de Atepeixi, Puebla; en el genotipo cuatro fue la 25_19 de Tizayuca, Hidalgo; en el genotipo tres fue la 26_2 de Texcoco, Estado de México; para el genotipo dos fueron la 22_14 y 18_3 de Zumpango y Tecamac, Estado de México, respectivamente y finalmente para el genotipo uno fue la 26_2 al igual que para el tres (Cuadro 4).

Cuadro 4. Cepas de *P. stewartii* que presentaron mayor virulencia en los seis genotipos de maíz*.

Genotipo	Comportamiento**	Cepas***	Media	Localidad	Estado
1	Resistente	26_2	3.5714	Texcoco	México
2	Resistente	22_14	1.0000	Zumpango	México
	Susceptible	18_3	1.0000	Tecamac	México
3	Moderadamente resistente	26_2	4.7778	Texcoco	México
4	Moderadamente resistente	25_19	4.1111	Tizayuca	Hidalgo
5	Susceptible	24_7	4.5556	Tecamac	México
		6_1	4.5556	Altepeixi	Puebla
		22_14	4.5556	Zumpango	México
		22_17	4.5556	Zumpango	México
6	Susceptible	25_19	4.8333	Tizayuca	Hidalgo
		25_15	4.8333	Tizayuca	Hidalgo
		18_2	4.7500	Tecamac	México
Cepa de mayor virulencia en los seis fenotipos		26_2	3.6600		Texcoco

* Con base al análisis de varianza (Tukey, $P \leq 0.05\%$) estas cepas son las de mayor virulencia

** Jeffers, comunicación personal

*** El primer dígito corresponde la número de localidad y el segundo al número de muestra

Las cepas de menor virulencia, con valores estadísticamente significativos en el genotipo uno fueron la cepa 1_9 aislada en Zinacatepec, Puebla; para el genotipo dos fueron la 25_6 y 25_22 ambas aisladas en Tizayuca, Hidalgo y la 2_5 de Ajalpan, Puebla; para el genotipo tres fue la 1_11 de Zinacatepec, Puebla; para el genotipo cuatro fue la 22_5 de Zumpango, Estado de México y la 1_9 de Zinacatepec, Puebla; para el genotipo cinco fueron la 1_1 de Zinacatepec, Puebla, la 26_3 y la 18_1 de Texcoco y Tecamac, Estado de México; para el genotipo seis fueron la 24_14 de Tecamac, Estado de México y la 1_11 de Zinacatepec, Puebla (Cuadro 5).

Cuadro 5. Cepas de *P. stewartii* que presentaron menor virulencia en los seis genotipos de maíz*.

Genotipo	Comportamiento**	Cepas***	Media	Localidad	Estado
1	Resistente	1_9	0.1667	Zinacatepec	Puebla
2	Resistente	25_6	0.1111	Tizayuca	Hidalgo
		2_5	0.1111	Ajalpan	Puebla
		25_22	0.1111	Tizayuca	Hidalgo
3	Moderadamente resistente	1_11	0.1429	Zinacatepec	Puebla
4	Moderadamente resistente	22_5	0.6250	Zumpango	México
		1_9	0.4286	Zinacatepec	Puebla
5	Susceptible	1_1	0.7778	Zinacatepec	Puebla
		26_3	0.7500	Texcoco	México
		18_1	0.6667	Tecamac	México
6	Susceptible	24_13	2.1667	Tecamac	México
		1_11	2.1250	Zinacatepec	Puebla
Cepa de menor virulencia		22_5	0.9070	Zumpango	México
virulencia en los seis fenotipos		1_9	0.8333	Zinacatepec	Puebla

* Con base al análisis de varianza (Tukey, $P \leq 0.05\%$) estas cepas son las de menor virulencia

** Jeffers, comunicación personal

*** El primer dígito corresponde al número de localidad y el segundo al número de muestra

Los valores de virulencia de la cepa de referencia en comparación con los valores de las cepas aisladas en las diferentes localidades del Valle Central de México al inocularse en los seis genotipos de maíz fueron menores (Cuadro 3 y Figura 9), pero el patrón de reacción de patogenicidad y virulencia es el mismo que el obtenido por Jeffers, 2003; es decir el material clasificado como resistente para las cepas aisladas en México se comporto como resistente para la cepa de referencia e igualmente los materiales susceptibles se comportaron de la misma forma.

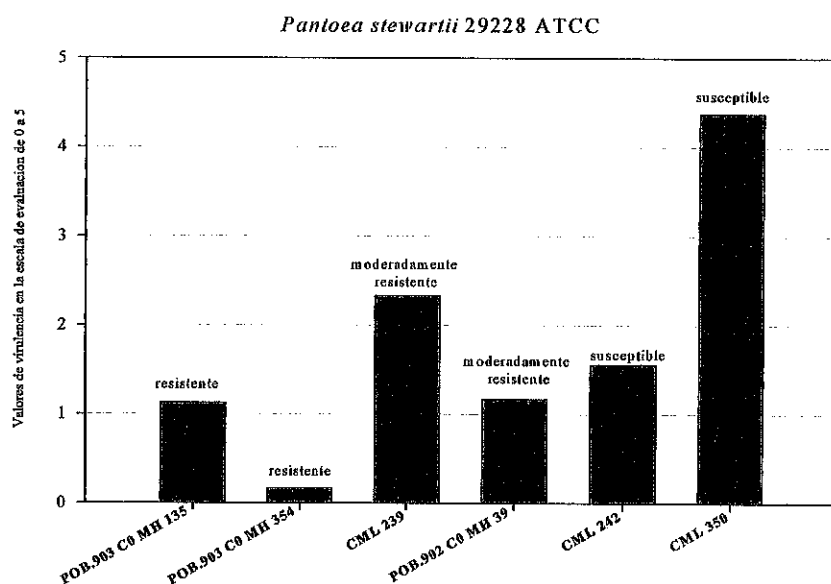


Figura 9. Valores de virulencia que la cepa de referencia de *P. stewartii* 29228 ATCC obtuvo en los seis genotipos de maíz utilizados en el experimento.

Al realizar un análisis de correlación entre las 82 cepas más la cepa de referencia se puede observar que existe una asociación significativa entre las 82 cepas más la cepa de referencia lo que nos confirma que existe poca variabilidad entre las cepas estudiadas en este trabajo, (Figura 10). Estos resultados nos indican que existe poca variabilidad entre las cepas utilizadas en este trabajo y esto confirma lo obtenido en otros estudios (Pataky, 2003) en donde *E. stewartii* en comparación a otras bacterias parece ser un organismo

relativamente homogéneo que se ha adaptado para sobrevivir en dos organismos, maíz y la pulga saltona *Chaetocnema pulicaria*. Por ocupar estos dos nichos especializados las poblaciones de *E. stewartii* han sido seleccionadas por su mayor similitud que otras especies de *Erwinia* no especialistas, tales como *E. herbicola* y *E. carotovora*, las cuales son ubicuas en naturaleza y mucho más diversas fenotípicamente que *E. stewartii*.

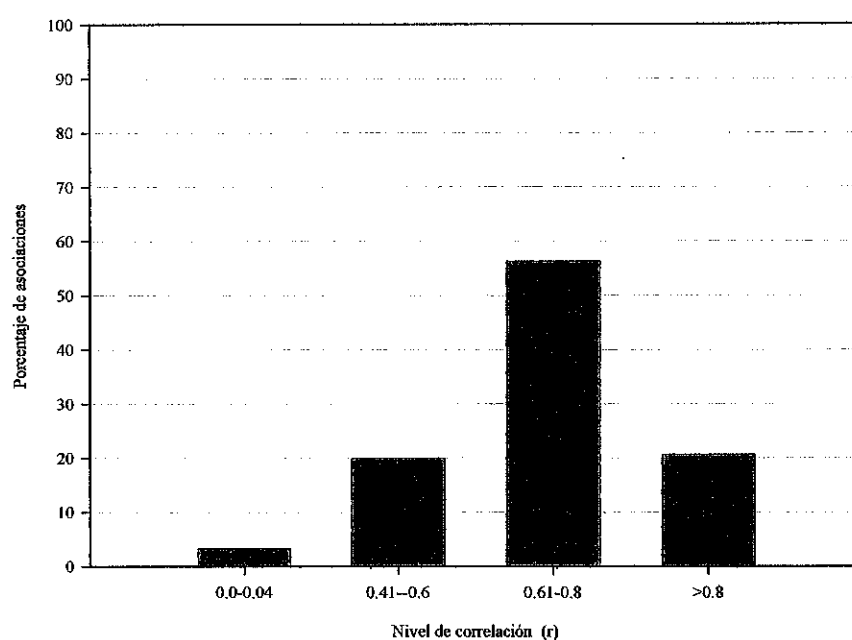


Figura 10. Porcentaje de asociaciones por nivel de correlación (r) según análisis de correlación ($P=0.05\%$) (SAS, 1994) entre las 82 cepas aisladas en 2002 más la cepa de referencia ATCC.

En el análisis para determinar el nivel de virulencia de las cepas evaluadas en los seis genotipos, las de menor virulencia fueron la 22_5 y 1_9, mientras que la de mayor virulencia resultó ser la 26_2 aislada en Texcoco, Estado de México (Cuadro 4 y 5). Esto también nos demuestra que la localidad de aislamiento no es un factor determinante del nivel de virulencia de las cepas.

CONCLUSIONES

El 100% de las 82 cepas inoculadas en seis genotipos de maíz de Valles Altos fueron patogénicas en los dos genotipos susceptibles y en uno resistente, el 98.8% fueron patogénicas en los dos genotipos moderadamente resistentes y el 66.27% fueron patogénicas en un genotipo resistente.

Con base al comportamiento de las 82 cepas y de la cepa de referencia en los seis genotipos se concluye que existe poca variabilidad entre las cepas aisladas en las diferentes localidades del Valle Central de México.

La distribución de las cepas según los valores de virulencia en cada uno de los genotipos fue poco variable e independiente de la localidad de origen de la cepa, por tanto se concluye que no existe relación entre la localidad de aislamiento de las cepas y el nivel de virulencia de cada una.

El comportamiento de las 82 cepas en los seis genotipos utilizados fue el mismo en comparación con la cepa de referencia.

Según la literatura revisada probablemente este es el primer estudio de virulencia entre cepas de *Pantoea stewartii* en México.

Agradecimientos. Los autores expresan su agradecimiento al Dr. Mateo Vargas (CIMMYT) por su disponibilidad y el tiempo que dedicado para llevar a cabo el análisis estadístico.

LITERATURA CITADA

1. Ávila, G., L. Fucikovsky, D. Jeffers, D. De la I. de Bauer, M. López, y J. Molina. 1999. Distribución de *Pantoea (Erwinia) stewartii* en maíz en los Valles Altos de México. Memorias XLV Reunión Anual Programa Cooperativo Centroamericano para el Mejoramiento de Cultivos y Animales (PCCMCA). Cd. de Guatemala, Guatemala. Resumen. 58 p.
2. Blanco, M.H., M.G. Johnson, T.R. Colbert, and M.S. Súber. 1977. An inoculation technique for Stewart's wilt disease of corn. *Plant Disease* 61, 5: 413-416.
3. Block, C.C., J.H. Hill, and D.C. McGee. 1998. Seed transmission of *Pantoea stewartii* in field and sweet corn. *Plant Disease* 82, 7:775-780.
4. Braun, E.J. 1982. Ultrastructural investigation of resistant and susceptible maize inbreds infected with *Erwinia stewartii*. *Phytopathology* 72, 1:159-166.
5. CAB International. 2003. Crop Protection Compendium, Global Module, 5th edition. Wallingford, UK, CAB International.
6. Claflin, L.E. 1999. Stewart's bacterial wilt. p. 3-4. In: D.G. White (ed). Compendium of corn diseases. Third edition. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. 78 p.
7. Elliot, C. 1938. Bacterial wilt of sweet corn in Mexico. *Phytopathological notes*. *Phytopathology* 28:443-444.

8. Fucikovsky, L. y L. Cabrales. 1975. Bacteriosis del maíz en el Valle de Toluca, México. *Agrociencia* 22:51-60.
9. Michener, P.M., and J.K. Pataky. 2002. Stewart's wilt reactions of South African maize varieties inoculated with *Erwinia stewartii* in field and greenhouse trials. *African Plant Protection* . 8, 1&2:33-40.
10. Jeffers, D. 2003. Fitopatologo de maíz, CIMMYT. Comunicación personal.
11. Michener, P.M., J.K. Pataky, and D.G. White. 2002. Rates of transmitting *Erwinia stewartii* from seed to seedlings of a sweet corn hybrid susceptible to Stewart's wilt. *Plant Disease* 6, 9:1031-1035.
12. Michener, P.M., J.K. Pataky, and D.G. White. 2002. Transmission of *Erwinia stewartii* from plants to kernels and reactions of corn hybrids to Stewart's wilt. *Plant Disease* 86, 2:167-172
13. Michener, P.M., N.D. Freeman, and J.K. Pataky. 2003. Relationships between reactions of sweet corn hybrids to Stewart's wilt and incidence of systemic infection by *Erwinia stewartii*. *Plant Disease* 87, 3:223-228.
14. Pataky, J.K., J.M. Headrick, and Suparyono. 1988. Clasification of sweet corn hybrid reactions to common rust, northern leaf blight, Stewart's wilt, and Goss' wilt and associated yield reductions. *Phytopathology* 78, 2:172-178.
15. SAS Institute, 1994. SAS User's Guide. SAS Inst., Cary, MC, USA.
16. SAGARPA, 1996. Norma Oficial Mexicana NOM-018-FITO-1995, por la que se establece la cuarentena exterior para prevenir la introducción de plagas de maíz. *Diario Oficial*, 5 de diciembre de 1996 (Primera sección).
17. Pepper, E.H. 1967. Stewart's bacterial wilt of corn. Monograph No. 4. The American Phytopathological Society. 36p.

18. Suparyono and J.K. Pataky. 1989. Relationships between incidence and severity of Stewart's and Goss's bacterial wilt and yield of sweet corn hybrids. Crop Protection 8:363-368.
19. Valencia-Torres N., M. Mezzalama, D. Jeffers, y S.G. Leyva-Mir. 2004 Detección de marchitez bacteriana del maíz, *Pantoea stewartii* (Smith) Mergaert, Verdonck y Kesters, en el Valle Central de México. Revista Mexicana de Fitopatología 22:308-314.

CONCLUSIONES GENERALES

Noemí Valencia-Torres, Mónica Mezzalama, CIMMYT Int., km 45 Carr. México-Veracruz, El Batán, Texcoco, Edo. de México CP 56130; **Santos Gerardo Leyva-Mir**, Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Parasitología Agrícola, km 38.5 Carr. México-Texcoco, Chapingo, Edo. de México CP 56.230; y **Daniel P. Jeffers**, CIMMYT Int. Correspondencia: n.valencia@cgiar.org

Los resultados indican que la enfermedad está presente en forma esporádica en México, como lo habían reportado otros autores anteriormente.

El 100% de las 82 cepas inoculadas en seis genotipos de maíz de Valles Altos fueron patogénicas en los dos genotipos susceptibles y en uno resistente, el 98.8% fueron patogénicas en los dos genotipos moderadamente resistentes y el 66.27% fueron patogénicas en un genotipo resistente.

Con base al comportamiento de las 82 cepas y de la cepa de referencia en los seis genotipos se concluye que existe poca variabilidad entre las cepas aisladas en las diferentes localidades del Valle Central de México.

La distribución de las cepas según los valores de virulencia en cada uno de los genotipos fue poco variable e independiente de la localidad de origen de la cepa, por tanto se concluye que no existe relación entre la localidad de aislamiento de las cepas y el nivel de virulencia de cada una.

El comportamiento de las 82 cepas en los seis genotipos utilizados fue el mismo en comparación con la cepa de referencia.

Según la literatura revisada probablemente este es el primer estudio de virulencia entre cepas de *Pantoea stewartii* en México.